日本水産学会誌

第二十三巻　第九号

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries

Vol. 23, No. 9　1958

目　　次

昭 和 三 十 三 年
日　本　水　産　学　会
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO

会　　告

昭和33年度日本水産学会年会お知らせ

日　4月1日（火）評議員会（水産大学会議室）

2日（水）研究発表，学会賞詮衡委員会

3日（木）研究発表，総会，受賞者記念講演，特別講演，会員懇親会

4日（金）研究発表

5日（土）農学大会，シンポジウム（増殖，プランクトン）

6日（日）シンポジウム（環境）

場　東京水産大学

発表申込締切期日　昭和33年2月15日　**厳守**

要旨締切期日　　同　　　上　　**厳守**

ポジウム申込　題名，責任者名，講演題目，講演者名等を2月15日までに準備委員長宛お申込下さい。

亼 先　東京都港区芝海岸通6丁目東京水産大学

日本水産学会年会準備委員長　　　久保伊津男

考　講演申込形式は本誌前号でお知らせしたとおりでありますが，なお下記のようにお願いします。スライド使用者は講演申込のときに"スライド使用"と朱書すること。スライドの使用枚数は10分の講演で8枚以内とする，図表はB判全紙2枚つづき（横120 cm）以下の大きさとし，掲示は2ケ処以内に制限します。

CONTENTS

* In Japanese with synopsis in English.

All communications and publications should be addressed to :
Japanese Society of Scientific Fisheries, c/o Tokyo University of Fisheries, Shiba kaigandori 6-chome, Tokyo, Japan.

日本水産学会投稿規定

1. 報文の投稿者は本会員個人に限る。但し会員外の共同研究者を含むことは差支えない。
2. 報文は投稿者の原著で他の刊行物に未発表のものに限る。
3. 報文は総て本会に送付し，本会に到着した日を以つて，受付月日とし，受付けた原稿は総て編集長の指定する２名の編集理事が回覧し，掲載可と認めたものはそのまゝ受理する。この場合の受理月日は受付月日とする。編集理事が其のまゝ掲載することに疑義をいだいた場合は編集長にその旨報告する。この場合編集長は編集会議を招集，審議し，受理し得ないと認めた場合はその理由を附し，原著者に返却し，訂正を求める。この場合の受理月日は，学会が訂正原稿を受理した月日とする。受理した論文は，その受理月日の順に掲載する。但し，その報文又は報文抄録が印刷費著者負担の場合は，会誌を増頁して掲載する。抄録を希望する場合は本論文をそえて提出すること。
4. 原稿１篇の長さは原則として刷上り４頁（表題．200 語の英文抄録を除き，図表の占める紙面を含め約 7000 字相当）とする。原稿一篇の学会負担の基準印刷費（7.200円）を超過した場合は著者が負担する。
5. 会員が会費又は著者として負担すべき印刷費の支払いを怠るときは，支払いのあるまでその会員の報文の受理又は掲載を見合せることがある。
6. 邦文報告には原則として 200 語以内の英文抄録（題名と著者名とを附記，名前は省略せぬこと，）を添える。
7. 図表には英文の説明をつける。邦文を併用してもよい。
8. 投稿の細目については別に定める注意書きに従う。

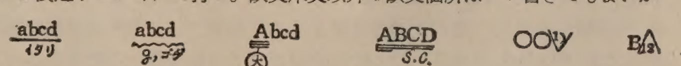
投稿に関する注意

1. 原稿を投稿するときには，本会所定の投稿カード（請求により配付する）に必要事項を記入し，之を原稿に添え本会に提出する。
2. 初校は原則として，著者が校正する（校正は迅速に行う事）。倘文章又は図，表の変更や追加は禁ずる。再校以後は編集部で校正する。
3. 英文抄録，図及び表の表題，説明等の英訳を希望される向はその原案を添えて投稿されたい。但し実費を申し受ける。
4. 別刷りの料金（X円）は次の式によつて算出される通りとする。X＝(1＋P)（N−50）円 P：頁数，N：別刷数（50 部を単位とする）従つて 50 部までは頁数に関らず無料である。特に表紙をつけることを希望される場合は，著者負担によつてこれをつける。(50 部当り 300 円)
5. 投稿後掲載までの間に著者の連絡先が変つたときには必ず通知されたい。

原稿の書き方

原稿は会誌体裁の統一，誤りの防止，編集印刷の便宜上次の諸規定を守られたい。既出報文との調和其の他のために例外を望まれる著者はその都度明記されたい。

1. **邦文原稿**は本会所定の原稿用紙にペンで横書きにし，記述は簡単明瞭にし新かなづかいを用いて難かしい漢字はさける。英文抄録は本文とは別葉にする。
2. **欧文原稿**は厚手の上質紙に２段送りのタイプで打つ。欧文本文以外の欧文個所はペン書きでもよいが必ず活字体を用いる。
3. **字体の指定**は右の如く赤で入れる。



Italic	Gothic	CAPITAL	CAP. & SMALL CAP.	うわつき（かたつき）	したつき

4. **表題** 主題・副題は別行に書き各々ピリオド（.）をつけない。第○報の場合はローマ数字（I，II）にして（――）でつなぎ数字の後に（.）をつける。
英文表題では第一語の他，名詞，副詞，形容詞，〔動詞は慣用に従う〕の頭文字は大文字にする。
5. **著者名** 邦文では連名の時は（•）で連ねる。ローマ字では名の頭を Capital 後は Small，姓の頭を Capital 後は Small Capital にする。連名の時は（,）で連ね最後の名の前を（and）で連ねる。（&）は用いない。末尾に（.）はつけない。
6. **所属** 著者名の下に（ ）で囲む。本文が邦文の時は英文の所属は入れない。但し著者が希望すれば脚註で入れてもよい。本文が英文の時は字体を *Italic* にする。
7. **図表** 表題，説明，内容とも英文で書く。必要ならば邦文併用もよい。番号は（Fig. 1. Table 1.）とする。番号，表題，説明は図ではその下に，表ではその上に入れる。表の細かい説明は下でもよい。邦文併用の時は邦文の番号（第1図，第1表）は省く。図表は必ず本文と別葉にし，本文中に挿入個所を赤で指定する。又本文中に引用する時は（Fig. 1, Table 1)を用いる。
8. **附図** 附図は1頁大の図版で（Plate）とし，なるべく篇末に入れる。原図が写真であつても本文中に組込む時は Fig. にする。附図の番号はローマ数字（I，II）を用いる。
9. **生物名** 邦文ではカタカナの和名の次に，学名を *Italic*（命名者名は Roman で頭文字を Capital，後を Small Cap.）で入れ，英文では俗名の次に学名を邦文と同様に入れる。〔その間は（,）で切る〕これを原則とするが論文により必要がなければ一部又は全部の学名，俗名を略してもよい。学名は（ ）で囲まない事。
10. **化学名** 邦文中の外来語の化学名は一般的なものはカタカナを用い，英字を用いねばならない時は Small で入れる。
11. **人名** まぎれない時は姓のみを記し名と敬称とを省いてもよい。欧名でも姓のみで頭文字は後は Capital，後は Small capital で書く。
12. **単位及び記号** 単位を表わす文字は英文中では（C.，cc.，m*l*.，kg.，m.）の如く（.）をつける。但し（Ω, μ, γ, N, M, pH，及び方位の N, S, E, W）には（.）をつけない。邦文中ではこれらの（.）はすべて省く。量を代表する記号は（長さ l，高さ h）の如く *Italic* にする。
13. **邦文本文中の外国語**（横文字の場合）は人名，地名，ドイツ語の名詞等を除き Small で入れる。同一邦文中で同一物名の和洋語の混用はさける。
14. **文献** 本文中の関連個所にうわつきで一貫番号をつけ一括して末尾に集める。番号はアラビア数字(1,2,3) を用い片カッコ（[1]，パーレン）で囲み各行の末尾にピリオド（.）をつける。著者名は姓と名とを書き著者名の後はコロン（：）で切る。雑誌名の略し方は慣用法に従う。日本水産学会誌のことは本誌とする。英文雑誌名は *Italic* で書く。雑誌の巻番号は **Gothic** にする。西歴年号は必ず入れる。文献の見出しは（文献，References）とする。同一著者名，同一雑誌名を連記する時は（――）で略してもよい。
　文献の書き方について著者の都合で上の指定によらない時は特にその事を付記しておく事。
15. **脚註** 脚註は数字でない記号（*，**）を用い関係頁の下段に入れ巻末に集めない。

NH_4OH による二枚貝の産卵誘発*

相 良 順 一 郎
(東海区水産研究所)

Artificial Discharge of Reproductive Elements of Certain Bivalves caused by Treatment of Sea Water and by Injection with NH_4OH

Jun'ichiro SAGARA

It has been reported that the discharge of sexual products of *Pecten yessoensis, Haliotis discus, H. sieboldii, Anadara subcrenata* and *Brachidontes senhousia* were artificially induced by simultaneous increase of temperature and alkalinity, but in *Mytilus edulis,* the mature sexual products were discharged by mere bathing its cut mantle in ammoniated sea water.

The writer, in the present experiment which used NH_4OH, was not only successful in obtaining the discharge of reproductive substanecs of *Mactra venerifomis, M. sulcataria, Gryphaea gigas* etc. but also of *Tapes japonica* and *Meretrix lusoria* which have not previously been induced to discharge artificially by the injection of k-salts or *faradic* stimulation. Results obtained are as follows:

1. Presumptively effetive factor on the spawning induction of *Mactra.*

The first experiment using *Mactra veneriformis* and *M. sulcataria* was carried out to ascertain whether the induction of spawning was due to pH (alkalinity) or NH_4^+ ion. The sea water including both NH_4OH (NH_4^+ ion and pH) and NH_4Cl (NH_4^+ ion), was effective in producing the discharge of reproductive substances, while NaOH (pH)-sea water was not effective. From these results, it is difficult to decide whether pH or NH_4^+ ion is more effective, but it is conceivable that NH_4^+ ion will be particularly effective in the discharge, as KCl solution is in the case of the mantle of *Mytilus edulis* (see Table 1).

2. The treatment with NH_4OH-sea water.

When *Mactra veneriformis, M. sulcataria, Gryphaea gigas, Corbicula japonica* and *Trapezium japonicum,* during their spawning season, were immersed in a suitable concentration of ammoniated sea water, they began to spawn their reproductive substances without the stimulation of temperature (see Table 2).

3. The injection method of NH_4OH solution.

Meretrix lusoria and *Tapes japonica* could not spawn with the treatment in NH_4OH-sea water, but successfully spawned when 2 cc of suitable concentration of NH_4OH solution were injected directly into the gonad (see Table 3).

As the ova and spermatozoa discharged by the methods above-mentioned were all mature, the author was successful in the artificial fertilization with ease and fertilized eggs developed normally to swimming larvae.

緒　　言

NaOH 又は NH_4OH 等を用いて海水の pH を高めると同時に温度を高めて産卵を誘発させる試みは，二枚貝ではホタテガイ（木下 1943）[7]**，モガイ，ホトトギスガイ（日下部 1956)[8]，巻貝ではアワビ（猪野 1952)[2] 等でなされ，その方法が産卵誘発の手段として有効であると報告されている。又岩田 (1952)[6] はムラサキイガイの生殖巣の入つている外套膜の一部を切りとつたものについて，これに NH_4OH-海水処理

1957 年 5 月 22 日 受理

* 東海区水産研究所業績B第260号

** 山本[12]はホタテガイの産卵誘発には温度を急激に上げるだけで充分で pH を高める必要はないが，pH の下降は産卵を抑制すると述べている。

をするだけで生殖物質の放出を起させることが出来ると報告している。著者は今回主として NH_4OH を用いて二枚貝の産卵誘発に関する実験を行つた。そしてシオフキ，バカガイ等の外，これまでカリウム塩注射法，電気刺激法（岩田 1948, 1949）[3) 5)] 等によつても産卵誘発が出来なかつたアサリ，ハマグリについて放卵放精を促進することが出来た。こゝに報告し参考に供する次第であるが，懇切なる御教示並びに御校閲を戴いた岡山大学岩田清二博士，東海区水研猪野峻博士又御討議を戴いた深井麟之助博士，ベックマン pH メーターの測定について御教示と御便宜を戴いた大竹茂技官の諸氏に対し厚く感謝の意を表する。

材料及方法

供試貝類はすべて千葉県浦安産のもので，その殻長約 30～45mm のアサリ，約 45～60mm のハマグリ，約 30～40mm のシオフキ，約 50～70mm のバカガイ，約 23～28mm のヤマトシジミ，約 30～35mm のウネナシトマヤガイ，及び殻高約 50～80mm のカキを用いた。材料は大きさ，個数に応じてそれぞれ適当量の海水（σ_{15}. 1.017～1.019）を入れた円形バット（直径 250mm，高さ 130mm），又はシヤーレ（直径120mm，90mm，高さ 60mm，30mm）中に収容し，予め調整した NH_4OH，NH_4Cl，NaOH 等の 1 規定（N）溶液を，後述の各所定規定濃度を含む海水になる様に加えて実験を行つた。又 NH_4OH の所定濃度の水溶液を後述の様につくり，これをアサリ，ハマグリ及びカキについては直接その生殖巣内に皮下注射用 $^1/_3$mm 注射針を用いて 2cc 容量を注射する方法を行つた。注射の際は両殻の間に外径 6mm 位の硝子棒を挿入して殻を閉じない様に保つた。海水の pH の測定にはベックマン硝子電極 pH メーターを使用した。

実験結果並びに考察

1. 産卵誘発要因の検討

初めに産卵が誘発されるのは果して pH の上昇によるのか，それとも NH_4^+ イオンによるのかを検討するためにシオフキ及びバカガイを材料として，それ等を第 1 表の様な NH_4OH，NH_4Cl 及び NaOH の各種濃度の海水溶液中に投入し，放卵放精を行うか否かを調べてみた。なおアサリ及びハマグリ等では生殖巣から切り出した卵と精子を用いては受精が極めて困難であるが，その様な卵の成熟を促進して受精可能にするために用いられている NH_4OH（和田 1942，畑中，佐藤，今井 1943）[10)1)] 以外の酪酸，尿素（山本，西岡 1943）[11)] についても，所定規定濃度の海水をつくり併せて実験を行つた。実験中の水温は 22.0～22.8°C であつた。実験の結果は第 1 表に示す通りである。

この表に示す通り，シオフキ，バカガイを収容した海水（pH 8.27）に 1N NH_4OH を添加して NH_4OH の濃度が 1/1000～1/100 N になる様にすると，pH は 8.72～9.90 に上昇し，約 10～30分後に放卵放精を行う。これに反して 1N NaOH を同様に添加して NaOH の濃度が 1/1000～5/1000 N になる様にすると pH は 9.13～10.20 となり同様に pH は上昇するが，放卵放精は起らない。次に 1N NH_4Cl を同様に添加して NH_4Cl の濃度が 1/1000～1/10 N になる様にすると，pH は 7.93～7.21 となり pH は下るが，NH_4Cl の濃度が 1/40～1/10 N である NH_4Cl-海水中では NH_4OH 添加の場合よりやゝ遅れて 30～60 分後に放卵放精が起る。但し 1/40N 以下の濃度では反応が起らない。

以上の結果から，NH_4OH の添加の場合の放卵放精には NH_4^+ イオンと pH の上昇の両方の要因が働いていると考えられ，NaOH の添加の場合には NH_4^+ イオンの要因がなくて pH のみの要因であるが，この場合放卵放精が起らないことから，シオフキ，バカガイの放卵放精には NH_4^+ イオンが有効であるように思われる。しかし一般に強酸及び強塩基は細胞膜を通り難く，弱酸及び弱塩基は通り易いことが知られているので，NaOH の添加の場合は単に貝のまわりの海水のアルカリ度が高くなつただけであつて貝の細胞内の pH は殆んど変らないのに，NH_4OH 添加の場合は貝の細胞膜を通して細胞内もアルカリ性になつた為と考えられるので，簡単に NH_4^+ イオンのみの要因であるとの断定は下せない。なおホタテガイの場合[7)]には pH を上昇させるのに NaOH の使用が有効であつたが，この場合は pH のみの要因であろう。NH_4Cl 添加の場合の放卵放精は NaOH の場合と逆に pH の要因はなくて，NH_4^+ イオンのみの要因と考えられる。しかしこれも NH_4Cl が弱塩基の NH_4OH と強酸の HCl とに加水分解して細胞内は膜を通り易い NH_4OH によりアルカリ性になるために放出が起ると考えられるので（岩田 1952）[6)]，NH_4^+ イオンの要因と

Table 1. Experiments with chemicals to determine whether pH or NH_4^+ ion induces the spawning of Mactra

Chemicals employed	Normality of each chemical in sea water	pH value*	*Mactra veneriformis*	*Mactra sulcataria*
NH_4OH	1/100	9.90	+	+
	8/1000	9.90	+	+
	5/1000	9.80	+	+
	3/1000	9.24	+	+
	1/1000	8.72	+	+
NH_4Cl	1/10	/	+	/
	1/20	(7.21)	+	/
	1/40	7.48	+	+
	1/50	/	−	−
	1/100	7.73	−	−
	8/1000	7.78	−	−
	5/1000	7.78	−	−
	3/1000	7.93	−	−
	1/1000	8.00	−	−
NaOH	5/1000	10.20	−	−
	3/1000	9.72	−	−
	1/1000	9.13	−	−
Urea **	1/20	(9.00)	−	−
	1/40	/	−	−
	5/1000	8.26	−	−
Butylic acid**	5/1000	5.21	−	−

Note : + Discharge. − No reaction.
pH value of original sea water is 8.27, but that in parentheses is 7.92.
* measured by glass electrode pH meter.
** These chemicals are usually used to mature eggs.

いうよりむしろ細胞内のアルカリ性を高めたためという方が妥当であろう。唯 NH_4Cl 添加の場合，NH_4OH 添加によつて放出を起す濃度と同じ濃度では全然反応がなくて，NH_4Cl の濃度がかなりの高濃度（1/40 N）以上でないと，放卵放精が起らないことは興味ある事実と思われる。

以上の如く，シオフキ及びバカガイの放卵放精に対して NH_4OH–海水と NH_4Cl–海水とが共に有効で，あつたので，NH_4^+ イオンがこれ等の放出に特異な仂きをすることが推察される。この現象はムラサキイガイの外套片に於ける KCl 溶液（岩田 1952)[6] の場合と類似している。但し今回の実験の範囲内ではその要因が pH によるものか，或は NH_4^+ イオンによるものかは断定し得ない。なお卵の成熟を促進して受精可能にする酪酸，尿素海水はいずれも放出には無効であつた。唯酪酸添加の場合海水が過度に酸性となるが，そのまゝの海水で実験を行つたので，未だ検討する必要はある。

2. NH_4OH-添加海水処理による産卵誘発

既述の通り産卵の誘発は NH_4OH でも NH_4Cl によつても誘発させることが出来るが，NH_4OH の方がその所要濃度も少くて済み，又放出までの反応時間も早い傾向があるので，NH_4OH を用い，たまたま産卵時期に当つていたシオフキ，バカガイその他の貝類について実験を行い，それぞれの貝類の実験期間中に於いて得られた各種濃度に於ける放出率を第２表に示した。実験期間中の海水の pHは約8.0～8.3の間であつた。なお実験の都度 pH の測定は行わなかつた場合もあるので，pH 値については第１表を参考とされたい。

表に示す通り，シオフキについては４月16日～７月30日及び８月24日～９月22日の間に於いて実験を行つた結果（水温16～29°C），NH_4 の濃度が 5/1000～1/100 N の海水処理でほぼ 50% の放出率を示すが，それより低い濃度の 3/1000，1/1000N の濃度では約 26%，12.5% であり，漸次放出率は悪くなる。放出は5/1000N 以下の濃度では自然の産卵と同じであるが，8/1000N では一部の個体が，1/100 N では殆んど全

Table 2. Relation between the normality of NH_4OH-sea water and the rate of discharge in certain bivalves

Species	*Mactra veneriformis*		*Mactra sulcataria*		*Gryphaea gigas*		*Corbicula japonica*		*Trapezium japonicum*	
Normality of NH_4OH-sea water	Discharged Nos./Total Nos.	Rate of discharge	Discharged Nos./Total Nos.	Rate of discharge	Discharged Nos./Total Nos.	Rate of discharge	Discharged Nos./Total Nos.	Rate of discharge	Discharged Nos./Total Nos.	Rat of dis-charge
1/100	28/59	47.4*	7/18	38.9*	3/ 8	37.5	6/22	27.3	2/5	40.0
8/1000	26/46	56.5	6/12	50.0	—	—	—	—	—	—
5/1000	43/89	48.3	6/21	28.5	9/21	42.8	5/21	23.8	2/8	25.0
3/1000	10/39	26.2	2/ 7	28.6	2/ 9	22.2	6/18	33.3	—	—
1/1000	3/24	12.5	3/ 7	42.8	0/17	0	—	—	—	—
Duration of experiments	16 April–30 July 24 August–22 Sept.		17 April–4 July 4 August, 19 Sept.		23 June–27August		27 June–24 July		23 June, 4 August	

* Sperm or eggs were abnormally discharged through ventral margin of shell instead of siphon.

Table 3. Relation between normality of NH_4OH solution injected and the rate of discharge in certain bivalves

Species	*Tapes japonica*		*Meretrix lusoria*		*Gryphaea gigas*	
Normality of NH_4OH-sea water	Discharged Nos. / Total Nos.	Rate of discharged	Discharged Nos. / Total Nos.	Rate of discharge	Discharged Nos. / Total Nos.	Rate of dicharge
1/5	—	—	9/56	16.1	9/25	36.0
1/10	1/10	10.0	7/20	35.0	3/10	30.0
1/20	35/80	43.8	22/78	28.3	15/23	65.2
1/40	3/10	30.0	1/7	14.3	—	—
3/100	3/22	13.6	3/7	42.9	—	—
1/100	4/17	23.5	4/14	28.5	—	—
Duration of experiments	21 May - 27 June, 4 Sept - 2 Oct		31 May, 20 June - 28 Sept.		23 June - 10 August	

部の個体が異常な放出を行う。即ち卵や精子は水管から放出されずに間歇的な両殻の開閉運動によつて腹縁から放出される。1/100N 以上になると，貝は殆んど殻を開くこと無く死に到る。これはアンモニアの毒性が 1/100N 又はそれ以上になると強く影響してくるためと思われる。従つて貝自身にも又放出された卵や精子にも悪影響をあたえないで，而も放出率の良い 5/1000N が産卵を誘発させるのに適当な濃度であると云えよう。又放出までの時間は 1/1000N ではそれ以上の濃度に比べてより長くかゝる傾向があり，3/1000～1/100N の間では貝の成熟度の差異がより多く影響するためか，放出開始までの時間は個体差が大きく，約10分から60分までの間に放出するものが多い。

バカガイは４月17日～７月４日，８月４日及び９月19日の３回に亘り実験を行つたが，(水温16～24°C)，供試個体が少ないためか，各濃度に於ける放出率は約 30～50%で，シオフキの場合の様に濃度に比例した傾向は見られなかつたが，高濃度の 8/1000，1/100 N に於ける異常放出はシオフキのそれと全く同様であつた。放出までの時間もシオフキの場合と同じく約 10～60 分の間に放出するものが多い。

カキは６月23日～８月27日の間に実験を行つたが (水温24～26°C)，シオフキ，バカガイに有効である最低濃度の 1/1000N では放出率は０であつた。このことは貝の種類によつて放出に有効な最低濃度が異なることを示している。供試個体が少なく 8/1000N に於ける実験を欠いたが，3/1000N が最低放出限界濃度であり，3/1000～1/100N に於ける放出率は約 20～40% を示した。放出までの時間は約 15～80 分の間で，低濃度の 3/1000 N では長くかゝる傾向がある。

ヤマトシジミは６月27日～７月24日の間に実験を行つた (水温 24～26°C)。供試個体も少なく，1/1000N 及び 8/1000N の実験を欠くが，3/1000～1/100N の放出率は約 20～30 %を示した。放出は１時間以上経過してから行われる場合が多く，シオフキ及びバカガイ等に比し緩慢である。なおこの貝は川口に棲息するので実験に供する海水は棲息水域のそれと変らぬ塩分量の少ない海水を使用すべきであつたが，こゝではシオフキ等に用いたと同じ普通海水を使用したので，その様な事が影響していると思われる。従つてこの貝については改めて実験を行う必要がある。

ウネナシトマヤガイはたまたま密生したカキに附着していたものを材料としたので，他の貝に比し供試個体は特に少なく，６月23日と８月４日に行つた 5/1000N 及び 1/100N についての実験のみである。従つて放出率，放出時間を云々することは早計であるので，表に掲げて参考とするに止める。

3. NH_4OH 溶液注射による産卵誘発

アサリ，ハマグリは前記の NH_4OH 海水処理法では全く無効であつた。そこで K 塩注射法に於ける様に生殖巣内に直接所定濃度の NH_4OH 水溶液注射を試みた所，放出を起させることが分つた。なおこの方法は既述の通り 2cc 容量を注射したが，貝が小さい場合は特に注射の際，溶液が体外に溢れ出る場合が多い。従つてどの程度の液量が生殖巣内に入つたかは明らかでない。この方法をアサリ，ハマグリ及びカキについて行つた結果を第３表に示した。

表に示す通り，アサリは５月21日～６月27日及び９月４日～10月２日の間に実験を行つた結果 (水温20～°C)，1/10～1/100N NH_4OH 注射による放出率は約 10～40%を示した。なお 1/10N 以上の溶液を注射すると，アンモニアの毒性が強く影響して，例えば 1/2N 溶液では死ぬ場合がある。1/100N 以下の溶液は放出に無効であつた。放出は約 10～70 分後に行われ，数分又は数 10 分放出が続いて止まつて了う場合や，始めわずかずゝ放出し数 10 分後に盛んに放出する場合，又放出量の多寡等個体による放出状況は多様であつた。

ハマグリは５月 31 日及び６月 20 日～９月28日の間に実験を行つた (水温20～29°C)。1/5～1/100N 溶液注射による放出率は約 15～40% を示した。なお 1/5N 以上の溶液注射は貝自身に悪影響をあたえること，1/100N 以下の溶液は放出に無効であること等はアサリと同様である。唯ハマグリの方がアサリより貝が大きいためか，NH_4OH に対する抵抗性が後者より強い様である。しかし 1N 溶液等の濃厚液を注射すれば死んで了う。放出までの時間及び放出状況はアサリの場合と殆んど同様であつた。カキは６月23日～８月10日の間に実験を行つた (水温24～26°C)。カキは注射の際，ガラス棒を両殻の間に挿入しても注射部位 (左殻頂部の左側) まで針をさし入れることが困難なので，その部位を実験前日に小さく割つて予め注射し易い様にし，又衝撃の影響からの回復も考慮して実験を行つた。実験は 1/5～1/20N のみの注射で放出率は約～65 % であつた。1/5N 以上の注射が悪影響をあたえることはアサリやハマグリと同様であるが，放出

に有効な最低濃度については実験を欠くため不明である。放出までの時間は 15 分位のものが多く，雌は雄に比べて放出は緩慢に行われる場合が多い。なお上記の NH_4OH 溶液注射法によりシオフキ及びバカガイも放出を起すが，注射法より簡便な NH_4OH 海水処理法で放出を起させ得るので，この実験は殆んど行わなかつた。

4. NH_4OH により放出させた生殖物質による人工受精

シオフキ及びバカガイは成熟した個体の生殖巣から直接切り出した卵と精子を用いて人工受精が容易に出来る種類であるが，今回の様な NH_4OH を用いて放出させた卵はカリウム塩注射の場合と同じく，胚胞の明瞭な大きさの揃つたものであり，精子も活潑で共に組織片等の夾雑物も殆んどない。従つて切り出した卵と精子を使う方法に比し，種々の点ではるかに優れていると云えよう。勿論両者をかけ合せての受精は可能であり正常に発生する。これに反してアサリ及びハマグリは切り出した卵と精子を用いては人工受精が極めて困難な種類で，受精させるには既述の通り，NH_4OH 海水，尿素水溶液或は酪酸海水等で卵を予め処理しなければならない。自然に放出された卵はアサリでは既に胚胞が消失して第 1 回の成熟分裂の中期の状態にあると云われているが（宮崎 1934)[9]，NH_4OH によつて放出させた卵はカリウム塩による放出の場合，その胚胞が明瞭に存在している（岩田 1948)[4]のに反して，既に消失していて自然放出卵と全く変らない。

ハマグリの自然放出卵については報告はない様であるが，カリウム塩注射により放出された卵の中で，大きな内容の充実したものは胚胞の輪郭が既に不明瞭になつているのもあるが，未だ胚胞が消失していないものが大部分である（岩田1948)[4] のに反し，NH_4OH によつて放出させた卵はアサリ卵と同様に胚胞は全く消失している。

従つて今回の NH_4OH によつて放出させた卵と精子を用いてのアサリ及びハマグリの受精は可能であり正常に発生する。唯受精に当り注意すべきはシロチョウガイの発生の場合に於ける如く，海水中にアルカリが存在することは有害であり，発生過程に悪影響をあたえることが知られているので（和田1942)[10]，上記二法によつて放出させた卵は充分海水で洗つてから受精させる心要がある。なおヤマトシジミ及びウネナシトマヤガイについては受精の実験を欠いたので，その可能性については不明である。

以上未だ不備の点が多々あるが遂次これを補うと共に，今後他の貝類についても実験をすゝめて行きたい。

摘　　　要

NH_4OH を用いて二枚貝の産卵誘発に関する実験を行つて次の結果を得た。

1. シオフキ及びバカガイを材料として産卵が誘発されるのは pH の上昇によるものか，或いは NH_4^+ イオンによるものかを検討したが，そのどちらとも断定し得なかつた。しかし NH_4^+ イオンが放出に特異な仂きをすることが推察された。

2. 産卵期間中のシオフキ，バカガイ，カキ，ヤマトシジミ及びウネナシトマヤガイを適当な濃度の NH_4OH 添加海水中に入れることにより，その生殖物質を放出させることが出来た。

3. 同じく産卵期間中のアサリ及びハマグリは上記の NH_4OH 添加海水処理では無効であつたが，適当な濃度の NH_4OH 溶液 2cc をそれらの生殖巣内に注射することによつて放卵放精を起させることが出来た。

4. NH_4OH によつて放出させた卵と精子を用いての人工受精は可能であり，正常に発生する。

文　　　献

1) 畑中，佐藤，今井 ： 本誌, **11**, 5. 6, 218, (1943).
2) 猪野 ： 東海水研報, **5**, 9, (1952).
3) 岩田 ： 本誌, **13**, 5, 188, (1948).
4) — 〃 **13**, 6, 237, (1948).
5) — 〃 **15**, 9, 443, (1949).
6) — 〃 **17**, 6, 157, (1952).
7) 木下，渋谷，清水 ： 〃 **11**, 5. 6, 168, (1943).
8) 日下部 ： 昭和 31 年度日本水産学会年会講演要旨, 19, (1956).
9) 宮崎 ： 水産学会報, **6**, 2, 71, (1934).
10) 和田 ： 科学南洋, **4**, 3, 26, (1942).
11) 山本，西岡 ： 動雑, **55**, 11. 12, 372, (1943).
12) 山本 ： 本誌, 17, 2, 53, (1951).

日向灘イワシ巾着網模型実験—V.
綿網とサラン網との間における網裾沈降の相違について

飯 高 勇 之 助
（京都大学農学部水産学教室）

Model Experiments on the Sardine Purse Seine Operating in Hyuganada—V.

Yûnosuke IITAKA

In the previous paper, it was pointed out that there exists fluttered webbing around a purse line in the early stage of pursing. This may indicate that the gear is not completely free from the chance of entanglement, if this phenomenon is caused by unstable webbing around the purse line. In order to avoid this trouble, it seems desirable to decrease the amount of unstable webbing around the purse line by hastening the sinking of bottom margin of the net or by cutting off the needless portions of webbing. In the present experiment, the comparision between a cotton purse seine and a Saran (polyvinyliden chloride) purse seine in the sinking behaviours of the bottom margin of the net was made. The result was summerized in Fig. 2. It was found that the sinking movement of the bottom margin of the net was in a uniform motion in both the cases, and that the speed of sinking was about 8 m./min. in the cotton seine while about 11m./min. in the Saran seine.

巾着網の操業では潮流，風等による網成りの変形が著しいので普通，投網が完了するや否や直ちに環締操作が全速力で行われる。従つて，網によつて網裾が完全に沈下し終らないうちに環締操作が開始される場合がある。先の実験[1]によれば，日向灘地方で用いられている巾着網（両手廻し綿糸網，浮子綱約200尋，投網所要時間約3分，環締速度平均 16.5cm/sec）では網裾が網丈の約1割5分に相当する深さにしか達していない時に環締操作が開始されていると推定された。これでは環締中，網地に多くのたるみが生じ，就中，裾網地のたるみは環綱にからまる危険性があるから環喰現象[2]が起り易く網の漁獲性能はかんばしくないと言えるだろう。網の漁獲有効水深を増し，環喰の一原因と考えられる裾網地のたるみを少くするためには網裾の沈降速度を大きくするのがよい。こゝでは綿糸巾着網とサラン（Polyvinyliden chloride）巾着網とでは網裾の沈降速度にどの程度の差があるかを模型実験によつて検討した。

模　型　網

綿糸巾着網の網裾沈降については前報[1]で考察したので本報ではサラン巾着網について考察し両者の比較を行つた。実験に用いた模型の実物網には，綿糸網の考察の際に日向灘地方での網（森本徳次郎氏所有の事平網）を選んだのでこゝでも同じ型の網（但し，サランで構成されている）を選んだ。なお，こゝで比較する綿糸網とサラン網とでは網の構造上（寸法，目合，縮結，浮子，沈子，環及びそれらの数等）では全く同じであるが網の構成糸（綿糸或はサラン糸）の太さに多少相違があるとした。網糸の太さに相違があるとしたのは綿糸とサラン糸とでは抗張力，糸の腐朽，結節強度等の性質が異り，同じ魚を目的とする網なら当然網糸の太さに相違があつてもよいと考えられたからである。こゝでは綿網及びサラン網の両者が同じように約2ケ月間使用された時，それぞれの網構成糸がほゞ等しい抗張力を持つていることの条件のもとに綿網糸の太さに対するサラン網糸の太さが決められた（Table 1）。なお，事平網の綿網糸はカッチ染であつたので

1957 年 5 月 27 日 受理

約2ケ月使用後には抗張力がもとの抗張力（本多の実験式によつて推定）[3] の約8割に減少している[3]，それに反しサラン糸の抗張力はその間に減少がなく[4] 結節のために減少する割合を考慮に入れても1デニール当り 1.2g であるとして行われた。

Table 1. Diameter of the Netting Cord

Portion of the Net	Cotton Purse Seine		Saran Purse Seine	
	Thread Count (20'S, 2-strand)	Diameter of Cord (mm.)	Thread Count (250D. 15F, 3-strand)	Diameter of Cord (mm.)
Landing Bag	10	0.90	8	0.80
Bunt	8	0.84	6	0.67
Bed	6	0.73	4	0.53
Base Wing	6	0.73	4	0.53
Intermediate Part	4	0.55	3	0.47
Tapered Wing	4	0.55	3	0.47
Tip Wing	6	0.73	4	0.53

模型は田内法則に従い，全体の寸法の比を $\lambda'/\lambda''=\lambda=1/250$（記号はすべて前報に同じ），網糸の太さ及び網目の脚の長さの比を $D'/D''=L'/L''=1$，綱の太さの比

$$\frac{D_1'}{D_1''}=\frac{1}{\sqrt{\frac{\rho_1'-\rho'_\omega}{\rho_1''-\rho''_\omega}}}\sqrt{E\lambda},\quad \text{こゝで}\quad E=\frac{D'(\rho'-\rho'_\omega)}{D''(\rho''-\rho''_\omega)}$$

を環綱で 0.17，それ以外の綱で 0.048，又相対応する部分の浮子及び沈子の総浮力或は総沈降力の比を $\frac{F'}{F''}=\frac{\rho'_\omega}{\rho''_\omega}\cdot\lambda^2E\fallingdotseq16.2\times10^{-6}$ として作製した。

実験及びその結果

実験は前報[1] におけると同じように模型が先ず投網装置で静止水槽中に一時に落下され，次に実物に換算して（Ⅰ）3分，（Ⅱ）5分経過後から，環締装置により 16.5cm/sec. の一定速度で環締操作がなされて行われた。そしてその時の模型の網裾の形状の変化は水槽の側面のガラス越しに撮影機で捕え記録された。Fig 1. はこのようにして得られた網裾の変化の一部である。括弧内の数字は投網時からの経過時間（実物換算値，単位：分）を表わす。又左の図は（Ⅰ）の場合，右の図は（Ⅱ）の場合のものである。

得られたフィルムから投網開始時を基準とした経過時間（t）とその時の魚捕部網裾の到達水深（l）との間の関係を求めると Fig 2 となる。この図で破線で表わされているのは魚捕部の沈子綱の t-l 関係である。

Fig 1 及び2によれば，サラン巾着網の網裾は綿糸巾着網の場合と同じように等速沈降をし，環締操作が開始された後も環締めの影響が直接に伝わるまでは同じ沈降を続けることが知れる。然しながら，サラン網の網裾の沈降速度は約 11m/min. で綿網の約 8m/min. より大きい。従つて魚捕部の網裾の到達する水深は綿網のそれの約1.4倍の深さになると推定される。巾着網の環喰は網地にたるみをつくらぬように工夫すれば或程度防げるかも知れないと考えれば網裾の設計，網裾の沈降速度の問題が重要になる。既に述べてきたようにサラン網の網裾沈降は綿網のそれより早いと考えられるから上の観点からするとサラン網は綿網に較べて環喰が起きにくいと言えるかも知れない。然しながら，環喰には網地の柔軟性，からまり易さ等が当然関係している。又二重潮に遇えば環喰が起き易いと言われるから網地の吹かれ易さも影響しているであろう。従つて，これらの見地からも綿網とサラン網との比較がなされる必要があるだろう。この種の考察は次の実験で行う積りである。

最後に，平素御指導を賜わり本稿を校閲して下さつた川上太左英教授，激励を受けた東京水産大学名誉教授田内森三郎博士，南海区水研横田滝雄技官，当教室鑓打啓技官に対して厚くお礼を申上げる。なお，実験の材料については旭化成工業株式会社の御援助を得た併せて感謝の意を表する次第である。

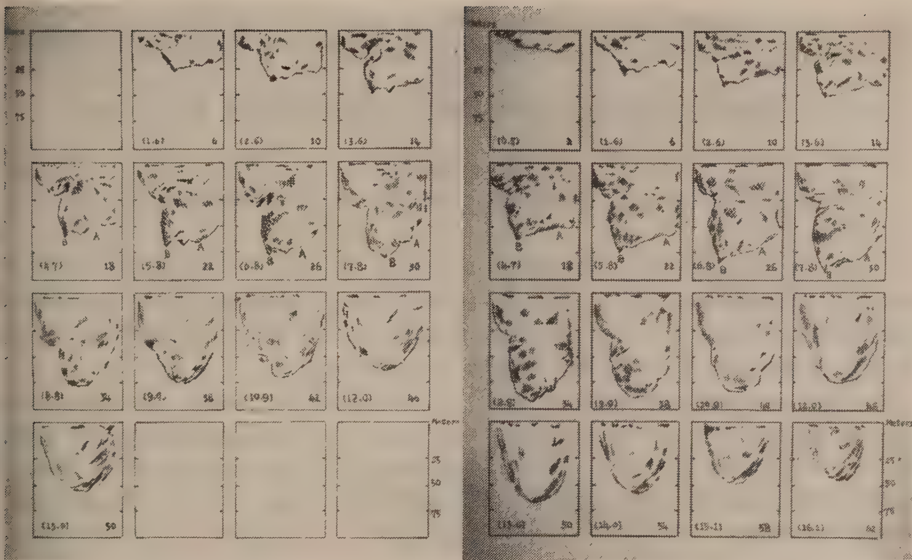


Fig. 1. Progressing transformations of the Saran seine.
The right hand half of figures shows the process of transformation in the case of (I) the left hand half shows that in the case of (II). A : wing, B : fish bag, parenthesized figures : elapsed time (in minutes), figures : film number since the net was set.

文　献

1) 飯高勇之助：日向灘イワシ巾着網模型実験—IV本誌 22（7）1956.

2) Kawakami, T. and Y. Iitaka : On a Simple Instrument, Siomi-Ito, for Detecting Underwater Current. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 20(11) 1955

3) 宮本秀明：定置網漁論 P. 60　P. 74 河出書房 昭27

4) 本多勝司：漁具に利用された合成繊維の網，縄，高分子，3 (10) 1954.

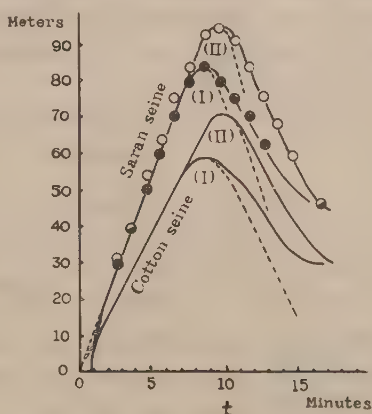


Fig. 2 Relation between the depth (l) of the bottom margin of fish-bag and the time (t) required to attain that stage. Entie line : maximun depth to which the bottom margin reaches, broken line : depth to which lead line reaches. The t-l relation of cotton seine was obtained in the previous experiment.

On the Relation between the Length of Ground Rope of a Danish Seine and the Variation of its Gape

Otohiko SUZUKI
(Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyoto University, Maizuru)

Fishing performance of a Danish seine, which is one of the popular towed net operating in adjacent seas of Japan, is considered to be based rather on its enclosing action than on its trawling action. After laying out a net, as the net is towed, the ground ropes and wings close slowly chasing the fish toward the bag.

Generally speaking, the fishing capacity of a net of this kind is considered to be closely related to the magnitude of the swath of its foot and ground ropes in action. When the towing duration and speed are kept constant, it is expected, therefore, that, in the same fishing ground, the amount of catches becomes larger with the retardation of closing of the wings.

In the present study, the behaviour of closing action with different lengths of ground rope and with dfferent towing speeds were studied, by means of a model test.

Experiment As the full size net for this model experiment, the typical medium Danish seine belonging to "Koei-maru" (19.9 G. T., 75. HP) was chosen. The seine is operated in the fishing ground off the coast of Wakasa during from September to January with the main fishing aim of clupeoid fish. Figs. 1 and 2 show its schematic sketch and diagram, respectively.

Model net : The model was designed according to Tauti's law[1] with a reduction ratio of 1/70 of the full scale. Its details are shown in Tables 1, 2, and 3.

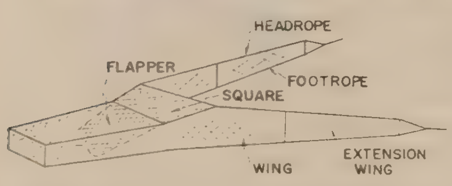


Fig. 1 Schematic sketch of a Danish seine.

Experimental equipment and method : Experimental equipment was consisted of (1) standing water tank—length ; 2.7 m., width ; 1.2 m., depth ; 0.5 m., (2) carriage for towing the warp, (3) rotating drum of Iitaka's design[2] for moving the carriage, and (4) 16 mm. cinecamera for filming the beheviour of the model net.

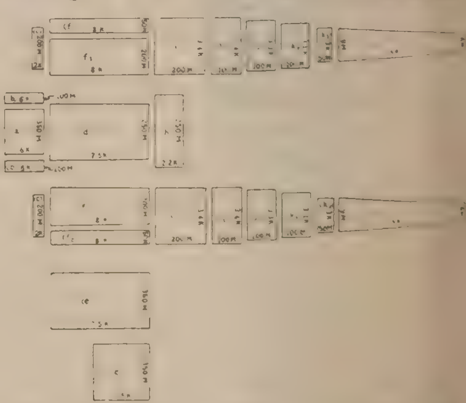


Fig. 2 Diagram of a Danish seine. "M" means the number of meshes, and "K" the stretched length. 1 K≒1.5 m. Refer to Table 1 as to the name of parts and the details of thread sizes and mesh sizes.

Received July. 29, 1957

Table 1 Thread and mesh size in model and in full scale

Part of the net	Mark	Full scale			Model		
		Material of thread	Diameter of thread	Bar measure	Material of thread	Diameter of thread	Bar measure
		Cotton	mm.	cm.		mm.	cm.
Bottom piece	a	20′s/12	1.039	1.081	Silk	0.24(0.284)	0.30(0.295)
〃	b	9	0.899	1.081	〃	0.24(0.246)	0.30(0.295)
〃 (side)	c	9	0.899	1.081	〃	0.24(0.246)	0.30(0.295)
Jpper belly	d	6	0.735	1.081	〃	0.21(0.201)	0.30(0.295)
Lower belly	e	9	0.899	1.377	〃	0.24(0.246)	0.40(0.376)
Side panel	f_1	6	0.735	1.081	〃	0.21(0.201)	0.30(0.295)
〃	f_2	9	0.899	1.377	〃	0.24(0.246)	0.40(0.376)
Flapper	g	6	0.735	1.081	〃	0.21(0.201)	0.30(0.295)
Square	h	9	0.899	1.377	〃	0.24(0.246)	0.40(0.376)
Wing	i	6	0.735	1.081	〃	0.21(0.201)	0.30(0.295)
〃	j_1, j_2	9	0.899	1.377	〃	0.24(0.246)	0.40(0.376)
〃	k_1, k_2	12	1.039	1.684	〃	0.24(0.284)	0.50(0.460)
Extention wing	l	Manila	4.140	30.300	Cotton	0.74(0.764)	5.00(5.600)

Remark : Figures in parentheses are the theoretical values calculated by the model law. Marks a, b, c, etc. are all the same as in Fig. 2.

Tabel 2 Rope size in model and in full scale

Line	Rope in full scal		Rope in model		Remarks
	Material	Diameter of rope	Material	Diameter of rope	
		mm.		mm.	
lead rope	Manila	13.0	Cotton	0.668	*) Foot rope in full scale net is wrapped with Manila ropes.
ib lines	〃	13.0	〃	0.668	
oot rope*)	〃	42.5	Silk	2.720	**) Cotton cord 20′s/4 was used for the warp in model, setting the similarity law at naught.
Varp	〃	24.0	Cotton	**)	
roud rope	〃	24.0	〃	1.220	

Table 3 Floats and sinkers in model and in full scale

Part to attach	Float in full sacle		Float in model	
	Material	Total buoyancy	Material	Total buoyancy
quare	Glass ball	3.150 kg.	Paulownia	1.170×10^{-1} g
pper belly	Glass ball & Wooden float	3.504	〃	1.305×10^{-1}
ing	Glass ball & Wooden float	3.504 *)	〃	1.305×10^{-1} *)
xtention wing	Wooden float	2.330 *)	〃	0.867×10^{-1} *)

*) Total buoyancy in one side.

art to attach	Sinker in full scale		Sinker in model	
	Material	Total weight in water	Material	Total weight in water
wer belly	Earthen-ware	1.79 kg.	Iron wire	0.666×10^{-1} g
ing	〃	3.58 *)	〃	1.330×10^{-1} *)
tention wing	〃	1.43 *)	〃	0.532×10^{-1} *)
tton piece	Lead	2.05 *)	〃	0.763×10^{-1} *)
ker chain	Iron	26.20 *)	Lead wire	9.750×10^{-1} *)

Total weight in one side.

The carriage could be moved along the rails, which had been set up on the tank, at a given speed by pulling a cord connected to the rotating drum. The lower end of a thin rod attached downwards to the carriage was ready to adjust its height, to which forward end of the warp was secured. Thus, according to the movement of the carriage, the model net was towed in the water.

The lengths of the ground ropes and the warps were restricted owing to the scale of the tank. In the present experiment, the length of the ground rope was shortened as compared with the calculated length (8. 6 m) that was given by the similarity law. The following four cases were distinguished ; (1) 0 cm. (sinker chains were directly connected to the tips of the extention wings), (2) 10 cm. (corresponds 7 m. in full scale), (3) 20 cm. (14 m. in full scale), and (4) 30 cm. (21 m. in full scale). The length of warp was also shortened to 148 cm. in the case of (1) by the same reason as was mentioned above, while the calculated length was 7 m. The total length of the warp and ground rope was kept constant to 148 cm., therefore the lengthening of the ground rope caused a shortening of the warp.

The towing speed was changed to learn how the horizontal spread between two wings is closed with different speeds.

The net was laid out in such a way that the ground rope of both sides, port and starboard, including the foot rope, and the two warps assume three sides of a traiangle (cf. Fig. 3). From this state, the net was towed keeping the forward end of the warp at a height of 10 cm. from the bottom surface where the sand was spread over. The towing speed was maintained at various constant values, thus the

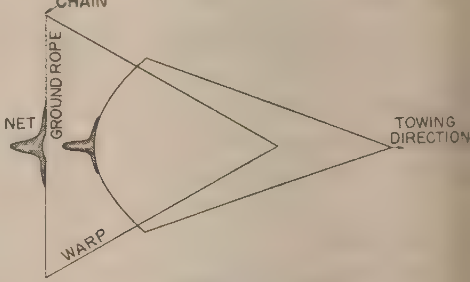


Fig. 3 Schematic representation of laying and towing the net.

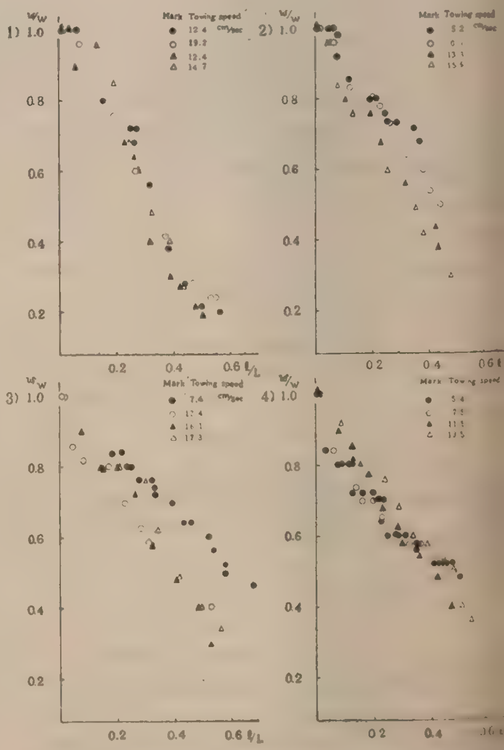


Fig. 4 The relation between the spread and the movement of extention wing tips. 1), 2), 3), and 4) show the respective result in the cases where the lengths of ground rope are 0 cm., 10 cm., 20 cm., and 30 cm.

ehaviours of the net were photographed from above to observe its details.

Results and Considerations The spread and movement of the extention wing tips were measured from the movie film thus obtained. The relations between them are shown n Fig. 4, where L is the towed distance of rod ($L=1$ m. for all the tests), l the length f the forward movement of extention wings, w the spread between the tips of both the xtention wings when the tips advance by l, and W the initial value of w. Different narks denote the different towing speeds.

Looking over these plots in Fig. , the regular variation of closing ehaviour with different towing speeds an be hardly noticed except the case), were the closing rate seems to ecome larger with the more increas- ng of towing speed.

The movements of closing action f the extention wings were then com- ared by averaging each case according the length of ground rope. The re- ults are shown in Fig. 5. It seems at, in general tendency, the long round rope causes the slow closing the wings. This tendency is clearly bserved when the values of l/L xceeds 0.5.

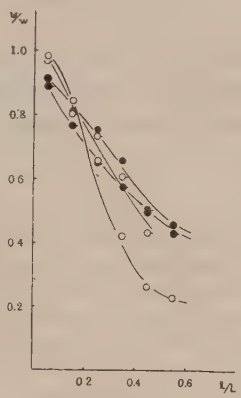


Fig. 5. The closing behaviour of extention wings with different lengths of ground rope. Different marks —○—, —○- -—, —●—, and —●- —denote the mean values of 1), 2), 3), and 4) in Fig. 4, respectively.

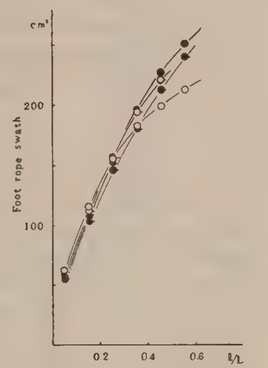


Fig. 6. The foot rope swath with different lengths of ground rope. Different marks are all the same as in Fig. 5.

Fig. 6 shows the swath of the ot rope, computed graphically from g. 5. The area swept by the foot pe appears to be wider with the longer ground rope. This fact is vaguely noticed when e value of l/L exceeds 0.3.

The author wishes to express his deep gratitude to professor T. KAWAKAMI of the yoto University, for his guidance and revision, and also to Dr. M. TAUTI, professor neritus of the Tokyo University of Fisheries, for his encouragement. Hearty thanks are so due to Messrs. N. ISOUTI and Y. IITAKA for their helps devoted in the course of periment.

References

) TAUTI, M. : A relation between experiments on model and on full scale of fiishing net. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **3**, 171～177 (1934).

) IITAKA, Y. : Model experiments on the Sardine purse Seine Operating in Hyuganada—III (in Japanese with English synopsis). ibid., **21**, 459～462 (1955).

キハダ，メバチ，クロカワのカロリン，マーシャル諸島附近に於ける游泳層の季節変化について－I. 游泳層の季節変化について

中込 淳
（神奈川県水産試験場）

On the Seasonal Variation of Swimming Layers of Yellowfin Tuna, Big Eyed Tuna and Black Marlin in the Area of Caroline and Marshall Islands—I. On the Seasonal Variation of Swimming Layer

Jun NAKAGOME

It is important to know the swimming layer of fish shoal on the long line fishing. However, the seasonal variation of swimming layer of the tuna and marlin has not been studied. The author treats that problem with yellowfin tuna, *Neothunnus macropterus*, big eyed tuna, *Parathunnus sibi* and black marlin, *Makaira mazara*, in the area of Caroline and Marshall Islands.

Data on the swimming layer have been obtained from the investigations by the "Sagamimaru", the former research ship of the Kanagawa Prefectural Fisheries Experimental Station and the "Fujimaru", an allied ship of the Sizuoka Pref. Fish. Exp. Stat..

The depths from surface to the swimming layer of yellowfin tuna are shallower (about 115m) in the later spring, and deeper (about 150m) in the autumn, changing seasonally. Those of big eyed tuna are shallower (110-120m) in the later spring and in the durarion from November to December, and deeper (140-150m) in the autumn and January, chaning reciprocally. Those of black marlin are as follows. The deepest one (about 160m) was found in the spring, deeper ones were found in September and October, shallower ones in June and July, and the shallowest (about 100m) in December.

緒　言

延縄漁業に於いて対象魚の游泳層を知ることは非常に重要である。マグロやカジキの游泳層について既に 2, 3 の研究が行われている[1][2][3]。しかし，それらは全て短期間の調査から得られた游泳層であり，その季節変化については未だ報告をみない。

著者は，キハダ *Neothunnus macropterus*, メバチ *Parathunnus sibi* クロカワ *Makaira mazara* の カロリン，マーシャル諸島附近の各月の游泳層を算出し，その季節変化を調べたところ，興味ある結果を得たので，こゝに報告する。.

発表に当り，御指導下さつた東京水産大学吉原友吉先生，発表を許され，御指導，御鞭撻下された神奈川県水産試験場永井三夫場長に対し，衷心より謝意を表する。

資料及び方法

各月の游泳層は神奈川県水産試験場旧試験船相模丸[4][5][6][7]，静岡県水産試験場富士丸[8][9] の調査資料 (Table 1, 2, 3, Left column) を用い，釣獲水深は吉原の計算式[1] により算出した (Table 1, 2, 3, Right column)。

即ち，

1957 年 8 月 1 日受理

Table 1. Total number of yellowfin tuna caught by each hook in one set (consisting of 5 or 6 hooks) and estimated depth of each hook, from the data in the area of Lat. 0°-10° N, Long. 130°-180° E.

Year and month		Total number of yellowfin tuna on each hook						Estimated depth of each hook (meter)		
		1	2	3	4	5	6	1	2	3
Jan.	1953	116	187	258	174	69	— 5)*	81.9	118.8	137.1
〃	1956	88	191	157	165	111	— 7)	82.8	121.0	140.9
〃	1951	10	19	12	18	11	— 8)	81.6	120.6	141.8
Feb.	1951	86	238	459	456	204	65 4)	61.6	85.2	100.3
〃	1954	53	96	100	67	46	— 5)	82.5	116.8	140.0
〃	1955	5	18	19	15	**	— 6)	82.0	118.8	143.3
〃	1955	70	191	285	191	81	— 9)	74.9	98.7	108.5
Mar.	1953	123	173	177	134	74	— 5)	80.8	104.7	132.2
〃	1955	20	31	30	21	22	— 8)	82.0	121.6	144.1
Apr.	1954	34	84	63	32	**	— 6)	83.2	122.4	143.4
〃	1954	54	111	63	29	**	— 6)	82.8	121.0	140.9
May	1951	117	201	327	313	192	93 4)	61.6	85.2	100.3
June	1952	165	240	266	227	137	87 5)	73.9	103.1	122.0
July	1951	169	271	402	318	191	128 4)	61.9	86.0	101.6
Sep.	1953	23	18	39	22	21	— 5)	82.5	120.2	139.5
Oct.	1951	109	185	212	173	82	— 8)	81.4	199.7	140.1
Nov	1951	***	10	13	9	7	*** —	61.6	85.2	100.3
Dec.	1952	32	61	82	56	26	— 5)	81.6	117.5	135.2
〃	1955	10	13	15	7	**	— 7)	82.8	121.0	140.9

* Literature number
** Removed hook in No. 5 in all five
*** Removed hook in No. 1 and 6 in all six

Table 2. Total number of big eyed tuna caught by each hook in one set (consisting of 5 or 6 hooks) and estimated depth of each hook, from the data in the area of Lat. 0°-10° N, Long. 130°-180° E.

Year and month		Total number of big eyed tuna on each hook						Estimated depth of each hook (meter)		
		1	2	3	4	5	6	1	2	3
Jan.	1953	19	18	32	22	11	— 5)*	81.9	118.8	137.1
〃	1956	5	8	19	12	6	— 7)	82.8	121.0	140.9
〃	1951	1	5	5	2	3	— 8)	81.6	120.6	141.8
Feb.	1951	7	37	82	75	42	12 4)	61.6	85.2	100.3
〃	1954	18	47	56	40	20	— 5)	82.5	116.8	140.0
〃	1955	2	3	5	5	**	— 6)	82.0	118.8	143.3
〃	1955	11	29	34	34	15	— 9)	74.9	98.7	108.5
Mar.	1953	6	18	20	5	9	— 5)	80.8	104.7	132.2
Apr	1954	15	26	18	14	**	— 6)	83.2	122.4	143.4
〃	1954	14	19	15	9	**	— 6)	82.8	121.0	140.9
May	1951	12	19	46	41	30	14 4)	61.6	85.2	100.3
June	1952	21	50	69	48	42	14 5)	73.9	103.1	122.0
July	1951	74	129	198	182	114	49 4)	61.9	86.0	101.6
Sep.	1953	12	19	47	31	11	— 5)	82.5	120.2	139.5
Oct.	1951	4	6	14	8	7	— 8)	81.4	119.7	140.1
Nov.	1951	***	15	31	18	20	*** —	61.6	85.2	100.3
Dec.	1952	28	73	65	41	17	— 5)	81.6	117.5	135.2

* Literature number
** Removed hook in No. 5 in all five
*** Removed hook in No. 1 and 6 in all six

Table 3. Total number of black marlin caught by each hook in one set (consisting of 5 or 6 hooks) and estimated depth of each hook, from the data in the area of Lat. 0°–10° N, Long. 130°–180° E

Year and month		Total number of black marlin on each hook						Estimated depth of each hook (meter)		
		1	2	3	4	5	6	1	2	3
Jun.	1953	14	13	8	8	13	— 5)	82.9	121.5	141.5
Feb.	1951	32	58	75	72	45	47 4)	61.6	85.2	100.3
〃	1954	25	41	35	10	14	— 5)	82.5	116.8	140.0
Mar.	1953	30	25	36	32	32	— 5)	80.8	104.7	132.2
May	1951	24	28	39	40	32	37 4)	61.6	85.2	100.3
June	1952	53	78	75	40	49	57 5)	73.9	103.1	122.0
July	1951	103	102	95	74	71	104 4)	61.9	86.0	101.6
〃	1952	21	20	18	36	22	20 5)	75.1	106.2	127.5
Aug.	1952	6	5	8	3	3	— 5)	80.7	115.1	131.0
Sep.	1953	28	27	50	43	32	— 5)	82.5	120.2	139.5
〃	〃	19	19	26	21	20	— 5)	80.9	115.9	132.4
Oct.	1951	48	50	58	37	37	50 —	62.3	86.9	103.0
Nov.	1951	4	6	9	6	0	0 —	61.6	85.2	100.3
Dec.	1952	21	20	11	22	11	— 5)	81.6	117.5	135.2

); Literature number

$$最深部の鈎の水深 = h_a + h_b + l(\sqrt{1+\cot^2\varphi_0} - \cot\varphi_0)$$

$$各鈎の水深 = h_a + h_b + l(\sqrt{1+\cot^2\varphi_0} - \sqrt{(1-2j/n)^2+\cot^2\varphi_0}$$

但し h_a；枝縄の長さ

h_b；浮縄の長さ

l；幹縄の1鉢の長さ

n；1鉢の浮縄，枝縄又は枝縄，枝縄間の間隔数

j；1鉢の一方の端から鈎に一連番号を附した場合の各鈎の番号

φ_0；浮縄結着点の幹縄と水平線との角度で短縮率 k より求める。

k＝〔(幹縄1鉢の長さ)×(鉢数)〕/〔(投縄時の船速)×(投縄時間)〕

この際，1鉢の鈎（5又は6本）に一方の端から一連番号を附し，ちょうど対称の位置にある5本付では1と5，2と4，6本付では1と6，2と5，3と4の間で漁獲尾数の著しく異る場合は，漁獲尾数の多い方が正常な現象，少い方が異常な現象と考え，漁獲尾数の多い方を採用した。*

調査した海域は Fig. 1 に示す。

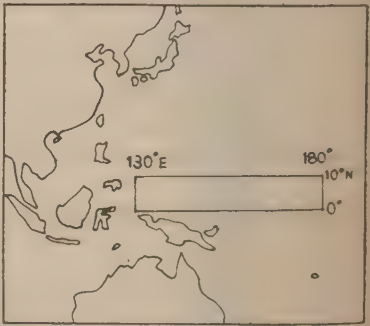


Fig. 1. The area where the swimming layers were observed

結果及び考察

全漁獲尾数に対する各鈎に漁獲された尾数の割合を鈎の水深に対応させてグラフに画くと，魚群の凡その垂直分布が解る。そこで，キハダ，メバチ，クロカワの垂直分布を各月毎に表わし，年に無関係に1月から12月まで表わすと Fig. 2, 3, 4 のようになる。

これらの図に於いて，全漁獲尾数に対する各水深の漁獲尾数の割合が最高となる水深を游泳層とみなして，その季節変化をグラフに画くと Fig. 5 のようになる。

* この現象は，研究者，業者間では既に周知のことで，現在では，幹縄のねじれによつて，1鉢の内先に投縄される方の側の枝縄が幹縄にからみつき，魚の摂餌に影響するのではないかと推察されているが，未だ，確かな原因をつきとめた報告はない。

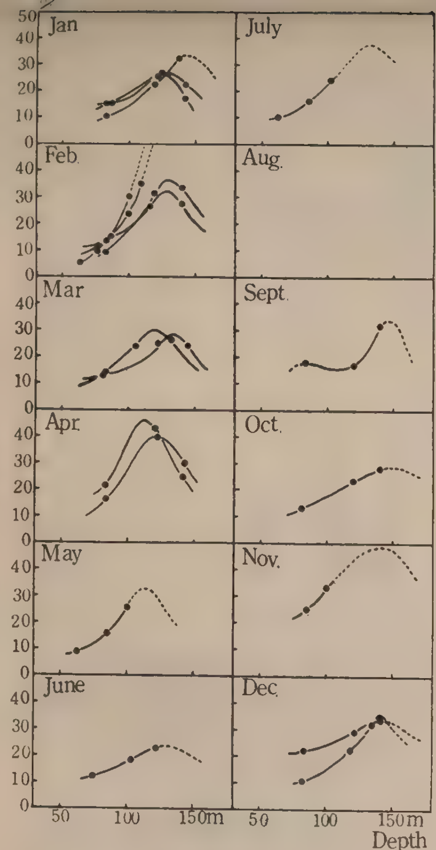


Fig. 2. Seasonal variation of the vertical distribution of yellowfin tuna in the area of Lat, 0°–10°N, Long, 130°–180°E
……Estimated curve

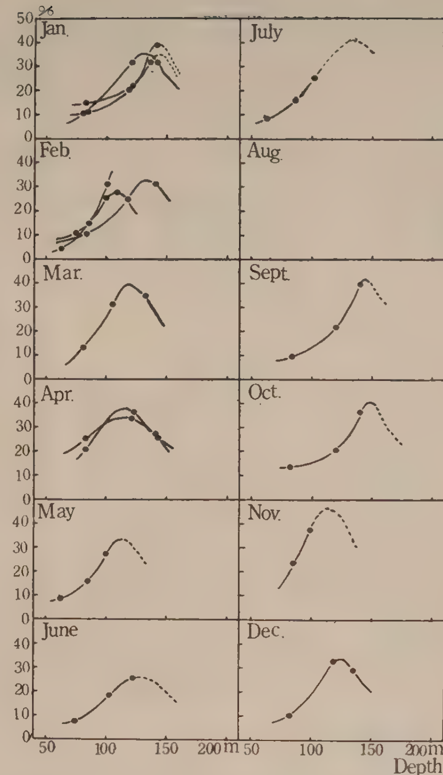


Fig. 3. Seasonal variation of the vertical distribution of big eyed tuna in the area of Lat. 0°–10° N, Long. 130°–180°E
……Estimated curve

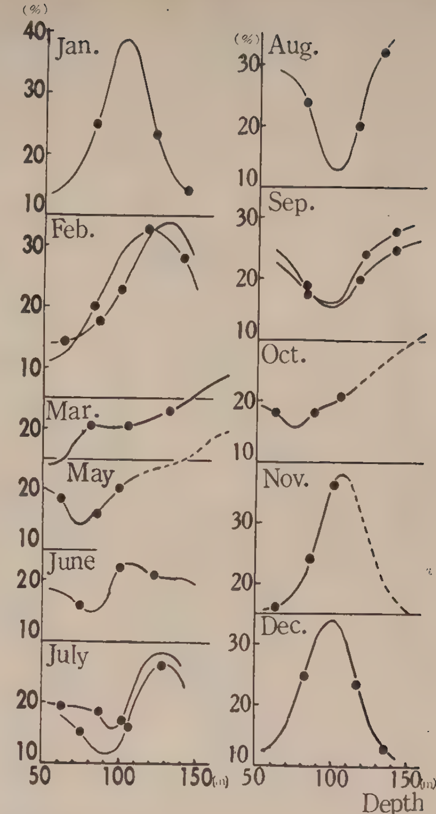


Fig. 4. Seasonal variation of the vertical distribution of black marlin in the area of Lat. 0°–10°N, Long. 130°–180°E
………Estimated curve

即ち，キハダは晩春の5月に最浅部（115m 附近），秋季の 10 月に最深部（150m 附近）に最も多く，この間緩に上昇降下し，明瞭な季節変化をしている。

メバチは，11，12月にかなり浅層（120～125m）にあり，1月にいつたんかなりの深層（140m附近）に移つた後次第に上昇して5月に最浅部（110m 附近）に到り，その後次第に降下して10月に最深部（150m 附近）に到つて再び急上昇し，11月の浅層に到る。

クロカワは 12 月に最浅層（100m 附近）にあり，3月にかけて急降下して 3，4，5 月は最深層（160 m 附近），6，7 月と稍浅層(130m 附近)に上昇し，9, 10月に再び稍深層（150m附近）に降下した後，急上昇して 12 月の浅層に到る。

これら3者を比較すると，キハダとメバチは，キハダが 10 月から5月にかけて次第に浅層に移つているのに対し，メバチは 11, 12 月にいつたん 120～125mの浅層に上昇して1月に 140m附近の深層に降下した後次第に浅層に移つて居り，この点が著しく異つている。

これに対し，メバチとクロカワは，共に浅層に到る 11月, 12月にクロカワはメバチより浅層に到る。又12月から6月にかけては，メバチが1月にいつたん 140m 附近の深層に移り，5 月にかけて 110m 附近の浅層に上昇した後降下して6月の 130m 附近に到つているのに対し，クロカワは 12 月から3月にかけて降下して 160m 附近の最浅層に到り，5月から上昇して6月の 130m 附近に到つて居り，この点が異つている。

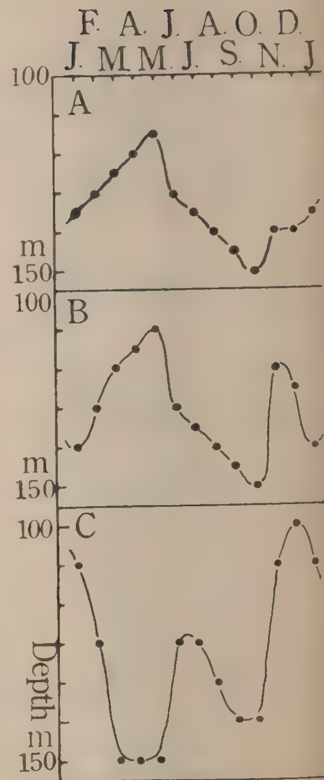


Fig. 5. Seasonal variations of the swimming layer of yellowfin tuna, big eyed tuna and black marlin in the area of Lat. 0°-10°N, Long. 130°-180°E

A : Yellowfin tuna
B : Big eyed tuna
C : Black marlin

J. : Jan.	J. : July.
F. : Feb.	A. : Aug.
M. : Mar.	S. : Sep.
A. : Apr.	O. : Oct.
M. : May.	N. : Nov.
J. : June	D. : Dec.

文　　献

1) 吉原友吉：本誌，**16**（8），**18**（5），**19**（10），1953.
2) 佐藤猛郎：水産講習所研究報告，**4**（2），1955.
3) 盛田友弌：鹿児島大学水産学部紀要，5，1956.
4) 野村俊造：神奈川県水試業務報告，昭和 26 年度，PP. 34—35，1952.
5) 古谷　清：　〃　，昭和 27，28 年度 PP. 19—21，1955
6) ―――：　〃　，(その2)，昭和 29 年度 P. 18，1956.
7) ―――：　〃　，(Ⅱ)，昭和 30 年度，PP. 19～20，1957.
8) 関野政夫，小泉政夫，伊藤敏郎：静岡県水試事業報告，昭和 25，26 年度，1953.
9) 関野政夫，長谷川昇作，高橋　和，伊藤敏郎：　〃　，昭和 28 年度，1955.

キハダおよびメバチの游泳層と塩素量垂直分布との関係

中 込 淳
(神奈川県水産試験場)

Relation between Seasonal Variation of Swimming Layer of Yellowfin Tuna and Big Eyed Tuna and Vertical Distribution of Chlorinity

Jun NAKAGOME

As the author formerly reported on the seasonal variation of swimming layers of yellowfin tuna and big eyed tuna, and on the relation between the layers and vertical distribution of water temperature, in the area of Caroline and Marshall Islands, he reports here on the relation between the swimming layer of those fishes and vertical distribution of chlorinity.

The layer is nearly contained between the equi-chlorinity layers of 19.40 and 19.50, lying along the latter, in the case of A division, but is not contained in the case of B. (Fig. 3, A & B). No relation between the swimming layer and vertical distribution of chlorinity may be concluded from the results above-mentioned.

著者は，先に，キハダ *Neothunnus macropterus* とメバチ *Parathunnus sibi* のカロリン群島，マーシャル諸島付近における游泳層の周年変化，及び游泳層が水温に関係のないことを報告した[1)2)]。その後，游泳層の周年変化と塩素量垂直分布の周年変化との関係について調べたのでここに報告する。

発表に当り，御指導下さつた東京水産大学吉原友吉先生，発表を許され，御指導御鞭撻下さつた神奈川県水産試験場永井三夫場長，又，終始御鞭撻下さつた東京水産大学稲葉伝三郎先生，神奈川県庁水産課矢板開課長に対し，衷心より謝意を表する。

資 料

各月の游泳層は，著者自身の資料[1)2)] に進洋丸の８月の資料を加えて引用，5°～10°N，130°～180°E の海域（以下Aと表わす），および，0°～5°N，130°～180°E の海域（以下 B と表わす）(Fig. 1）の各月の塩素量垂直分布は，神奈川県水産試験場旧試験船相模[4)5)6)7)]，岩手県水試岩手丸[8)9)]，静岡県水試富士丸[10)]の報告より引用した（Table 1.）。

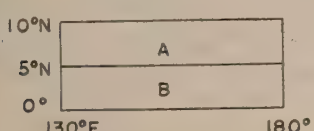


Fig. 1. Divisions of the area

Table 1. Stations where chlorinity was investigated
L. No. ; Literature No.

Area	A			B		
Month	St. Num.	L. No.	Month	St. Num.	L. No.	
1.2	15	2)	1	2	2)	
2	22	1)	1	16	4)	
3	10	2)	1.2	12	2)	
3.4	12	3)	2	28	1)	
5	9	1)	2	4	3)	
6	5	5)	4	1	3)	
7	2	5)	5	27	1)	
7	41	1)	6	4	2)	
7.8	18	2)	6	3	6)	
9	1	7)	7	13	6)	
10	10	1)	9	1	7)	
10	11	1)	10	4	1)	
12	1	2)	12	3	2)	
12	2	4)	—	—	—	

結果及び考察

海域 A，B の各月の塩素量垂直分布から，等塩素量線の周年変化を画くと Fig. 2 のようになる。

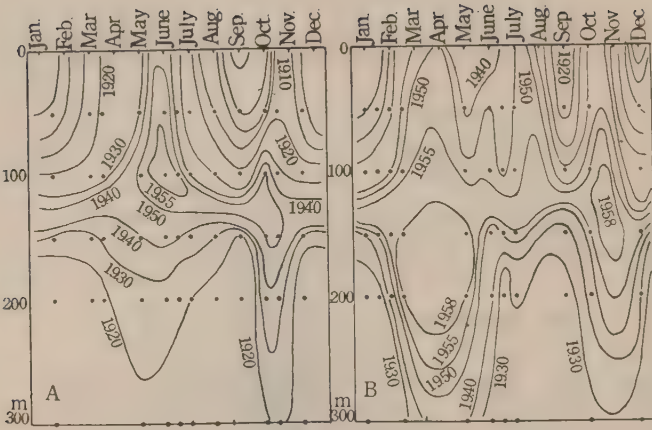


Fig. 2 The vertical distribution of chlorinity
A; the area of equatorial counter current
B; the area of south equatorial current

これを円グラフに画き游泳層の周年変化との関係をみると Fig.3のようになる。

Fig.2 から解るように，同水深の塩素量は海域 A と B とで非常に異なつている。しかるに，游泳層には，両海域に，塩素量のような著しい差はみられない。

即ち，海域 A では，游泳層が略 19.40 と 19.50 の間を 19.50 の等塩素量線に沿つて変化しているので，游泳層の周年変化と塩素量の周年変化との間に関係があるようにみえるが，海域 B に於いては 19.40 と 19.50 の間にはなく，周年変化にも関係がみられない。
従つて，游泳層は塩素量と関係がないと推察される。

文　　献

1) 中込　淳： キハダ，メバチ，クロカワのカロリン，マーシャル諸島付近に於ける游泳層の季節変化—I，游泳層の季節変化について（本誌に投稿），1957.

2) 中込　淳： 同上　—II，游泳層の季節変化と水温の季節変化との関係（本誌に投稿），1957.

3) 宮崎県教育委員会： 練習船進洋丸実習 報告書 昭和 30 年度，No. 2，1956.

4) 野村俊造： 神奈川県 水試業務 報告，昭和 26 年度，1953.

5) 古谷　清： 同上　，昭和27・28年度，1955.

6) ———— ： 同上　，昭和29年度，1956.

7) ———— ： 同上　，昭和30年度，1957.

8) 飯塚和夫，平野伴一：昭和 28 年度岩手丸南洋鮪漁業試験調査報告，No. 2，1954.

9) 飯塚和夫，青沼　巖他： 昭和 30 年度　同上，No. 2，1956

10) 小泉政夫，関野政夫： 静岡水試事業報告，昭和 29 年度，P.9，1956.

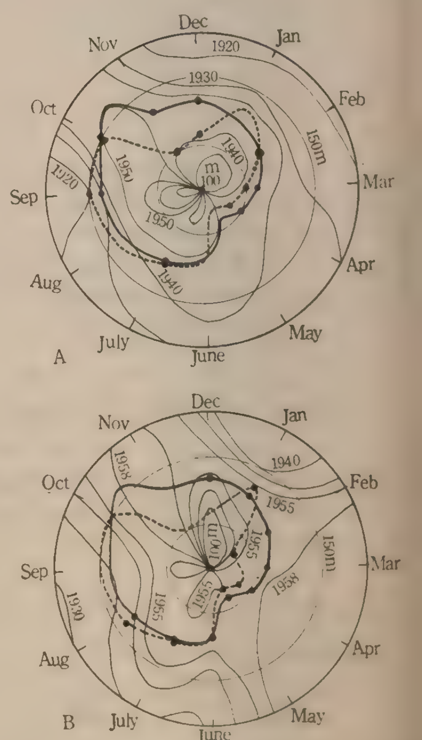


Fig. 3 The seasonal change of swimming layers of yellowfin tuna and big eyed tuna, and vertical distribution of chlorinity
A; the area of equatorial counter current
B; the area of south equatorial current
—; the swimming layer of yellowfin tuna
··; the swimming layer of big eyed tuna

クロカワの西部太平洋に於ける釣獲率と平均体長の季節変化，及び，性，洄游との関係

中 込 淳
(神奈川県水産試験場)

Seasonal Variation of Hooked-rate and Mean Fork Length and Relation among Hooked-rate, Mean Fork Length, Sexes and Migration of Black Marlin, *Makaira mazara*, in the Western Pacific Ocean.

Jun NAKAGOME

The relation between sexes and migration of black marlin in the area of 10°-24°N was formerly reported by Ueyanagi[1].

The author's results are as follows.

The hooked-rate changes seasonally. The rate in the division A is high in summer and low in winter. In D division it is in contrast with this. In B and C it is high in spring and autumn and low in summer and winter. The seasonal variation of hooked-rate agrees accordingly with the theory[4] on the migration.

The mean fork length changes seasonally, too. When the hooked-rate is high the mean fork length is small, and when the rate is low the mean value is large in the divisions of A and D. When the rate is high the mean is large and when the former is low the latter is small in B and C divisions.

The ratio of female to male changes also seasonally attaining the female to a fairly rich amount in spring and autumn.

The value of its ratio is small during the whole year in the division of B (Fig. 4).

The shoal of migrated marlin consists of nearly male.

A large number of female appears in B and C divisions in spring and autumn. These females seem to spawn distributing extensively in the northern equatorial region in summer and swimming scatteringly in the southern equatorial area in winter.

先に，10°～26° N の海域のクロカワ *Makaira mazara* について，性による魚体の大きさの差異と，月別体重組成の年変化とから，雌と思われるものは周年的にあまり変化はみられず，雄と考えられるものは季節変化が著しいと報告された[1) 2)]。

著者はクロカワの西部太平洋に於ける釣獲率（鈎 100本に対する漁獲尾数）と平均体長の季節変化について調べたが，その結果，上記報告と関連して興味ある現象が見出せたので，こゝに報告する。

発表に当り，御指導下さつた東京水産大学吉原友吉先生，発表を許され，御指導御鞭撻下さつた神奈川県水産試験場永井三夫場長，又，終始御鞭撻下さつた東京水産大学稲葉伝三郎先生，神奈川県庁矢板開一水産課長に対し，衷心より謝意を表する。

資 料

20°～30°N，130°～170°E の海域（以下Aと表わす（Fig. 1）)，0°～10°，130°～170°E の海域（以下Bと表わす（Fig. 1)），15°～35°S，150°～180°E の海域（以下Dと表わす（Fig. 1)），5°～20°N，160°～180°W の海域（以下Eと表わす（Fig. 1)）の釣獲率は神奈川県水産試験場の報告[3)]より引用，平均体長（平均尾叉長＝吻端より尾叉底までの長さの平均）は同報告[3)]の体長組成より算出し，0°～10°S，130°～

1957 年 8 月 27 日受理

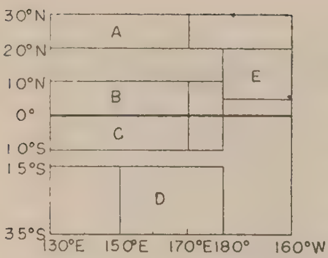


Fig. 1. Division of the investigated area

170°Eの海域（以下Cと表わす（Fig. 1））の釣獲率と平均体長は神奈川県水産試験場で調査した結果*から算出した。

海域Bの性比の季節変化は神奈川県水産試験場旧試験船相模丸[4) 5) 6) 7)]，岩手県水産試験場岩手丸[8)9)] 宮崎県教育委員会進洋丸[10)]，宮崎県水産試験場みやざき丸[11)]，千葉県安房水産高等学校共栄丸，千潮丸[12)]，鹿児島大学敬天丸[13)]の資料（Table. 1）より算出した。

結果及び考察

西部太平洋各緯度毎の釣獲率と平均体長の季節変化は Fig. 2 のようになる。

先づ釣獲率の季節変化をみると，海域Aでは夏高冬低，Dでは冬高夏低，Bでは春季と晩夏が高く夏季稍，冬季最も低い。Cでは Bと同様春季と秋季が高いが，冬季と夏季は最も低い。従つて魚群

Table 1. Monthly number of male and female in the area of 0°～10° N, 130°～170°E

Month	Male	Female	L. No. *
1	56	14	4)
1. 2	89	42	1)
1. 2	93	28	2)
1. 2	130	27	2)
2	94	21	1)
2	25	9	3)
3	66	40	2)
3	15	7	9)
3. 4	84	34	3)
4	35	23	3)
4. 5	139	26	1)
5	29	9	1)
7	225	81	1)
7	65	31	6)
8	55	42	9)
8	10	2	11)
8. 9	173	55	7)
8. 9	52	10	8)
9	139	48	2)
10	19	3	1)
10	137	34	1)
12	50	13	2)

* : Literature number

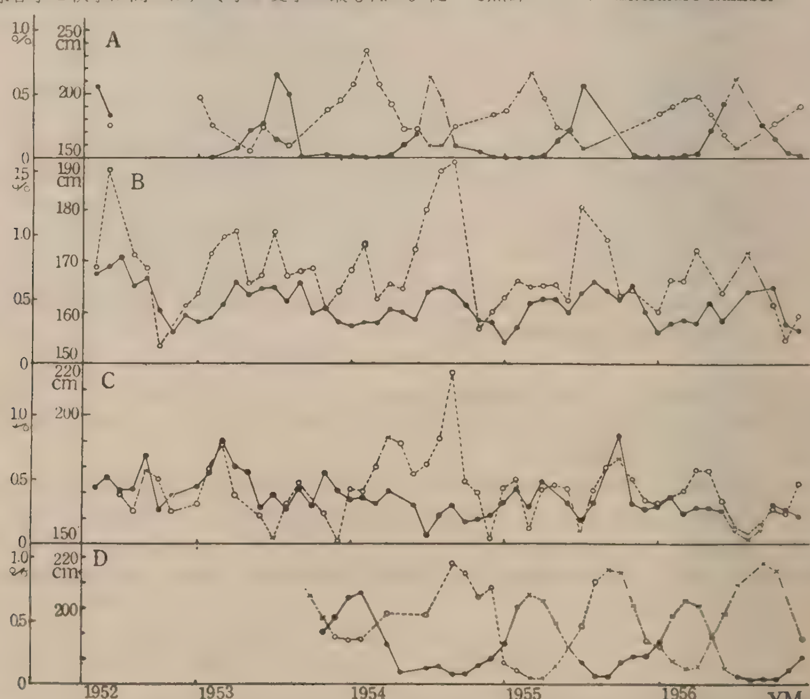


Fig. 2. The seasonal change of hooked-rate and mean fork length of black marlin in the western part of the pacific Ocean
A; the division of 20°-30°N, 130°-170°E B; the division of 0°-10°N, 130°-170°E
C; the division of 0°-10°S, 130°-170°E D; the division of 15°-35°S, 130°-180°E
——; hooked-rate ⋯⋯; mean fork length

* 資料は神奈川県水産試験場にある。

冬季は海域Dにあり，春季C, Bを通つて北上し，夏季はAにあり，秋季B，Cを通つて南下することを示て居り，南北季節洄游説[4]と一致する。

次に，平均体長と釣獲率の季節変化を比較すると，海域A，Dでは釣獲率の低い時季に大きく，高い時季小さい。海域B，Cでは釣獲率の高い春季と秋季に平均体長も大きく，低い冬季と夏季に小さい。従つて獲率と平均体長の関係は海域A，DとB，Cとで異つている。

しかるに，10°〜26°Nの海域に於けるクロカワは，雌雄によりその体長範囲を明瞭に異にし，モードが雌215cm 附近，雄は 165cm 附近にある傾向がみられる[2]。従つて，魚群の平均体長が急激に変化せず，第に大きくなつたり小さくなつたりすることは，雌雄の組成が変るためと考えられる。又，海域Bに於いは平均体長の季節変化と雌雄の組成の季節変化が一致する（Fig. 2, Fig. 4）点から，同様の傾向が推察れる。従つて，又，この現象は赤道以南の海域に於いても同傾向であろうと推察される。

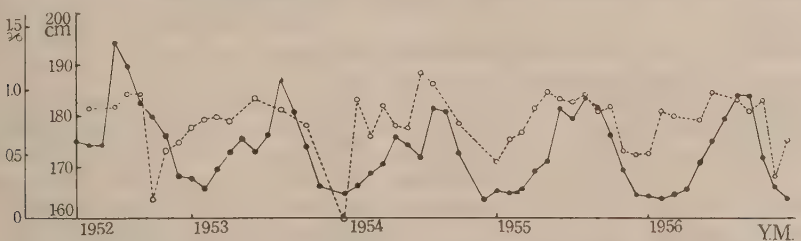


Fig. 3. The seasonal change of hooked-rate and mean fork legth of blalck marlin in the division of 5°-20°N, 160°-180°W.
——; hooked-rate ……; mean fork length

従つて，海域A，Dでは，釣獲率の高い時季に平均体長が小さく 160〜170cm 程度にあるので，洄游群殆んど雄によつて占められていると考えられ，海域Aについては上柳の説[2]と一致する。しかして，海域，Cは釣獲率の高い時期に平均体長が大きく 170〜0cm 程度にあり，Fig. 3 にも示されているようにかり雌が含まれている。又，海域Eに於いても，晩春高率があまりめだたないが，釣獲率の高い時期に平体長も大きく同様の傾向にある（Fig. 3）。

以上の結果から次の様なことが推察される。即ち，游群は殆んど雄によつて占められている。そして，季は，洄游群は海域Dにおり，海域B, C, には秋季下していた雄の内の洄游におくれた若干が，又海域には雌が僅かに残存している。春季は北上洄游期にり，洄游群は同じく出現した雌の群と共に海域B, C現れる。夏季は，洄游群は海域Aに出現し，海域 B, C では雌の群は消滅して，春季北上していた雄のの洄游のおくれた若干が，海域Dでは雌が僅かに残存している。秋季は南下洄游期に当り，春季の傾向と様である。

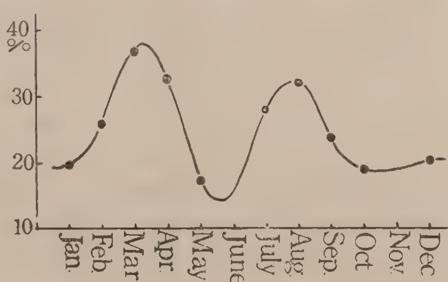


Fig. 4. The seasonal change of the ratio of female to male

従つて，海域 A, D では漁獲は洄游群によつて左右され，海域 B, C では洄游群の通過する時季に雌のも出現し，その結果漁獲が高くなる。

そして，春，秋季に海域 B，C に出現する雌の群は，夏は赤道以北，冬は赤道以南の海域に産卵のため布するのではないかと推察される。この現象は，10°〜26°N の海域に於いて 4〜7 乃至 8 月に成熟卵がい[1] ことからもうかがわれるが，この点については次回に究明する。

摘　　要

クロカワの西部太平洋各緯度毎の釣獲率は季節的に変化する。即ち，海域Aでは夏高冬低，Dでは冬高夏，B，Cでは春季と秋季に高く，夏季と冬季に低い。従つて，南北季節洄游説[4]と一致する。

平均体長も季節変化するが，釣獲率の季節変化と比較すると，海域A，Dでは釣獲率の高い時季に平均長は小さく，低い時季に大きい。B, C では，逆に，釣獲率の高い時季に平均体長も大きく，低い時季にさい。

海域Bの雌雄の組成は，周年雄の方が多いが，明瞭な季節変化を示し，春季と秋季に雌がかなり出現する迴游群は殆んど雄によつて占められている。雌は各海域に残存するが，大量の雌は迴游群が通過する春季秋季に海域B，Cに出現する。この雌は，夏季は赤道以北に，冬季は赤道以南に広く散在し，産卵するもうである。

文　　　献

1) 中村広司，藪田洋一，上柳昭治 : 南海区水研業績集，**1**，業績 13，1953
2) 上柳昭治 : 同上 業績，14，1953
3) 鮪漁業研究会，神奈川県水試，南海区水研 : 鮪漁業，**1～42**，1953～1957
4) 野村俊造 : 神奈川県水試業務報告，昭和26年度，1953.
5) 古谷　清 : 同　上，昭和27年度，1955.
6) ―――― : 同　上，昭和29年度，1956.
7) ―――― : 同　上，昭和30年度，1957.
8) 飯塚和夫，平野作一 : 南洋鮪漁業試験調査報告，昭和28年度，No. 2，岩手県水試，1954
9) ――――，青沼　巌 : 同　上，昭和30年度，No. 2，岩手県水試，1956.
10) 宮崎県教育委員会 : 練習船進洋丸実習報告書，昭和30年度，No. 2，1956.
11) 内田為彦，和泉衛松 : みやざき丸昭和30年度第3次航海まぐろ延縄漁業試験調査報告，1956.
12) 千葉県立安房水産高等学校 : 共栄丸，千潮丸乗船実習報告書，昭和31年度，1957.
13) 鹿児島大学水産学部 : 敬天丸実習調査資料，昭和31年7月23日～9月16日.

本邦産カタクチイワシの研究–I. 種族的研究 (2)

田村 修
(長崎大学水産学部)

Studies on the Japanese Anchovy—I. Racial Study (2)

Osamu TAMURA

After the samples of vertebral compositions of anchovies from 1951 to 1953 were classified into several types applying the χ^2-method to each sample of Tōkai, Nankai and Nihonkai Regions as reported lately "on the stock of Japanese sardine", the author discussed the relations between anchovy shoals in each year class and mainly in two sea regions.

The results obtained from the χ^2-comparison are as follows.

1. In any of years, as the common results through each year class, the cases of the same types and the different types between Nankai and Tokai in 0 year fish are 3 and 2, in 1 year class 3 and 0, in 2 or more year class 1 and 1.

2. In any of year classes, as the common results through each year class, the cases of the same types from Nankai between 0 year and 1 year fish are 6, those from Tōkai between 1 year and 2 or more year fish are 4, those between 0 year fish from Tōkai and 1 year or 2 or more year fish from Nankai are 4.

3. On the year fluctuation and the growth of those types, on the relation between water temperature and the types, on the method to classify fish shoals by means of the "Entropy" by Doi, some points are taken into consideration.

緒 言

昭和 26 年産の南海・東海区産カタクチイワシに就いては 1955 年に第 1 報を発表したが，同じく昭和 27, 年産に就き脊椎骨数の分布の χ^2 比較法による資源的研究を行つたので報告する。此の研究の目的とする は，各海区の魚群の相互関係であつて，主として質的の相互関係とその年変動を主眼としている。本報告 当り重要な御指導御指示を頂いた，東海区水研の栗田・土井両氏に対し厚く謝意を表す次第である。

材料及び方法

材料は前報と同様 [7) 8) 9)] 南海区, [18) 19) 20)] 東海区及び日本海区 [11)] による 鰛資源調査資料B輯である。方 は田内博士の原理に出発したものであり，前報と異る方法としては筆者のマイワシの種族的研究第 3 報[15)] 全く同様で，即ち，

1. 先づ各海区の多項目調査中脊椎骨数の資料から，体長・漁期と日本海区水研による各海区成長度[10)] と ら推定した年令別の，20尾を単位とした標本相互間の χ^2 比較

$$\chi^2 = N_1 N_2 \sum \frac{(f_i/N_1 - f_i'/N_2)^2}{f_i + f_i'}$$

し，此の値が 10 以上 (危険率 ca. 0.02)* を異る標本として，此の異る case が 10% 以下を含む標本 に類別した。

1957 年 8 月 30 日 受理

* 田村 (1954)：長大水研究報告 No. 2 27pp. 記載の χ^2 の危険率は間違につき訂正する。

2. 次にこれら各標本群中同海区，同年級，同漁具のもの同志を同じ x^2 式により（危険率 0.05）類別たが，各級頻度の中5以下のものは隣級に合一するために対応級が元の級数より著しく（全尾数の数割が一される様な）減少する時は無相関検定を行つた。

結　　果

Table 1. 2. 3 はその結果で各々昭和 26. 27. 28 年産であり，表中の T，N，J は東海，南海，日本区，P. D. S は巾着，曳網，定置網で，D'，S' は地曳．敷網，（±）は無相関検定である。これらは皆海区，同年令，同漁具の標本群としては，互に異る類型（標本群）である。

Table 1. The types of samples in 1951

Area	Age	Fishing method	Type	Number of vertebrae							Sum	Mean
				41	42	43	44	45	46	47		
T	0	P				2	17	94	59	8	180	45.3
T	0	D	(1)				18	211	184	7	420	.4
〃	〃	〃	(2)	2	7	43	152	176	36	4	420	44.4
N	0	P					10	111	77	2	200	45.3
N	0	D	(1)				140	1414	681	5	2240	.2
〃	〃	〃	(2)				10	55	71	4	140	.4
T	1	P					27	121	76	16	240	.3
N	1	P					15	177	85	3	280	.2
T	2≦	P				1	7	15	17		40	.2
N	2≦	P				1	52	316	168	3	540	.2

Note···T···Tōkai, N···Nankai, P···Purse seine, D···Drag net.

Table 2. The types of samples in 1952

Area	Age	Fishing method	Type	Number of vertebrae									Sum	Mean
				42	43	44	45	46	47	48	49	50		
T	0	P	(1)	7	26	14	9	4					60	44.3
〃	〃	〃	(2)		5	27	21	7					60	.5
〃	〃	〃	(3)			16	72	57	15				160	.4
T	0	D	(1)			33	453	268	6				760	.3
〃	〃	〃	(2)		17	262	119	2					400	.2
T	0	S	(1)			27	23	10					60	.7
〃	〃	〃	(2)			3	50	7					60	45.0
N	0	P				3	22	15					40	.3
N	0	D	(1)				38	2					40	.0
〃	〃	〃	(2)			102	1099	493	6				1700	.2
N	0	D′				21	162	77					260	.2
N	0	S′				11	72	37					120	.2
T	1	P	(1)	4	18	12	5	1					40	43.5
〃	〃	〃	(2)		9	80	88	20	3				200	44.6
N	1	P				36	307	134	3				480	45.2
N	1	D				50	578	249	3				880	.2
N	1	D′				3	37	19	1				60	.3
N	1	S′				66	443	170	1				680	.1
T	2≦	P	(1)		5	29	6						40	44.0
〃	〃	〃	(2)			23	66	55	16				160	45.4
〃	〃	〃	(3)		1	28	62	8					100	44.8
T	2≦	S	(1)			9	27	3	1				40	.9
〃	〃	〃	(2)			7	19	46	8				80	45.6
〃	〃	〃	(3)		25	83	48	4					160	44.1

Note P Purse seine D Drag net on boat, D′ alike to the former, S Set net, S′ alike to set net.

Table 3. The types of samples in 1953.

Area	Age	Fishing method	Type	Number of vertebrae. 42	43	44	45	46	47	48	Sum	Mean
T	0	P				12	164	102	2		280	45.34
T	0	D	(1)			10	139	68	3		220	.29
〃	〃	〃	(2)			13	235	185	7		440	.42
T	0	S	(1)		2	26	11	1			40	44.28
〃	〃	〃	(2)	3	13	13	10	1			40	.18
〃	〃	〃	(3)				57	3			60	45.05
〃	〃	〃	(4)			2	42	36			80	.43
N	0	D				57	320	123			500	.13
J	0	S				2	54	4			60	.03
J	0	S′				1	15	24			40	.58
T	1	P	(1)			17	112	11			140	44.96
〃	〃	〃	(2)			2	15	22	1		40	45.55
T	1	S			11	58	43	8			120	44.20
N	1	P				41	346	143	10		540	45.23
N	1	D				38	458	243	6		740	.29
N	1	S′				13	54	31	2		100	.22
J	1	D′				2	34	4			40	.05
T	2≦	P		3	4	24	81	45	2	1	160	.07
T	2≦	S			3	39	17	1			60	44.27
N	2≦	P				3	28	9			40	45.15
J	2≦	S				36	54	10			100	44.74
J	2≦	S′				18	21	1			40	.58

Note…T…Tōkai, N…Nankai, J…Japan Sea.

同年産　斯くして得た各類型中，先づ同年産，同年令，同漁具の標本群を異る海区間で比較したが，之を図示すればFig. 1. となる。これによる各年級の共通点を挙げると，0年魚では南海区対東海区間の同類型及び異類型の case は3と2．1年魚では南海区対東海区間の同類型及び異類型は3と0，同じく2年魚以上では1とし，東海区対日本海区のそれぞれは1と0で，当才魚では南海・東海区間が近縁の類型の case が多いと思われる。漁具による不一致点は，昭和 27 年P対Dのみで他はよく一致している。

同年級　次に異る年度産で同年級の各類型の相互間に χ^2 比較又は無相関検定を行うと，Fig 2. に示す様になる。但し之は同類型のみを示したので，他の全ての組合せは異類型であり省略した。矢印は方向を示すが，例えば0年魚から1年魚に成長する間に，途中の経路は不明であるが，0年魚の属する魚群又は魚群の集団の一部又は大部分が矢印まで到達したものと考えられる。これら両者の標本群は互に漁期と体長とがよく連続するものが多く，矢印は魚群の移動方向を示す場合が多いのではあるまいか。此の結果の中で各年級に共通の点を挙げると，南海区の0年魚が同海区の1年魚と近縁のものの case は 6．東海区の1年魚が同海区の2年魚以上と近縁のものの case は 4．東海区の0年魚が南海区の1年魚又は2年魚以上と近縁のものの近縁の case は4である。之は北上魚群の方が南下魚群よりも多い事を意味するものかも知れない。漁具による不一致点はPとCの間に例が見出される。

類型の性質　以上の結果を確かめる為に，同類型の成長度が一致し異類型の成長度が不一致であるか否かを検したが，前者で一致したものは 10 型，不一致のものは3型，疑問のもの4型であり，後者で一致したものは6型，不一致のもの6型，疑問のもの5型であつた。此処で注目される事は，昭和 26.27.28 年産南海区の当才魚（D）は同一類型の中に明かに成長の異る3群又は2群を含む事である。成長ひいては産卵期が著しく異るから発生水温も著しく異り，しかも同じ分布型を有する事は，Lissner (1934)[5] の云う lability に相当するものか，今後充分吟味すべきであろう。

同類型の示す平均脊椎骨数の年変動は甚だ小さく，見掛上では 0.11～0.13 であつた。

次に発生水温と各類型の平均脊椎骨数との関係を検したが，成長度は仮に日本海区水研報告（1956）[10]による春仔のものを中心に採つたから誤差は大きいかも知れないが，各類型の各標本の漁期と成長度から産卵

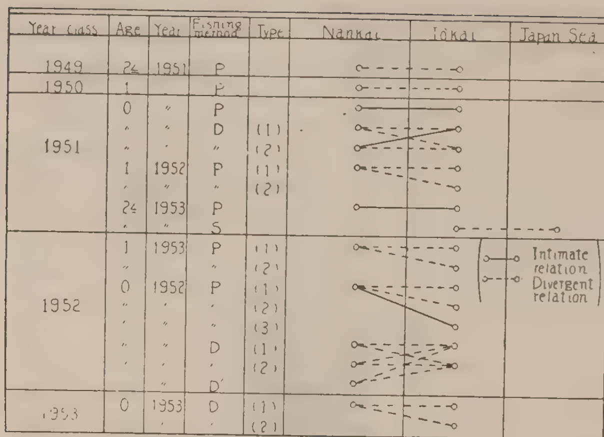


Fig. 1. The relations between Types of samples in same year

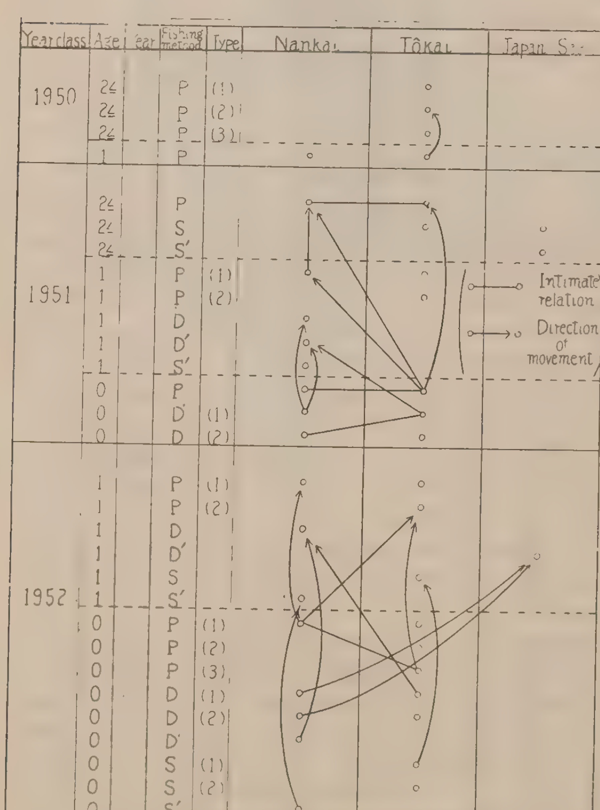


Fig. 2. The relations between Types of samples of same year class.

期を推定し，此の産卵月の比較的沖合(産卵場の最も沖)の表面水温を採り平均脊椎骨数との相関を求めた。昭和26～28年産当才魚の12類型では r は −0.031 平均脊椎骨数 45 以下の類型を除けば −0.682 で有意であり，0～2≦ 年魚の 26 類型では + 0.044，平均脊椎骨数 45 以下の4類型（何れも東海区）を除けば − 0.697 で有意の相関がある。東海区の此の例外4類型は何か条件が異るのではないかと思われる（例えば個人測定誤差等)。

考　　察

以上の結果が漁獲期の偏りのためか否かを分散分析で確かめようとしたが，対応月の不揃が著しく，殆ど比較不能であつた。然しマイワシに就ては同様の比較順序方法によつて，脊椎骨数分布型の独立性は確かめられたので，恐らくカタフチにも之が適用され得るのではないかと推定される。

魚群の体長に関しては雨宮等[1] 及び渡辺[21]田中[16]は魚群交代，産卵期の相違等をその原因と推定し，渡辺，浅見は脊椎骨数の地域差，年変化は少く季節変化は大で年変化が少ないとし，浅見[3]は脊椎骨数の月変化が連続的であるからその要因も連続量で示されるとし，脊椎骨数の変化は水温と深い関係があり南海区には race の差はない事を示唆している。筆者の結果では，南海区の当才魚は1951，'52年には2類型（D）が見られるが，1953年には1類型（各漁具とも）あつて，1年魚以上では 1953 年とも何れも1類型のみで平均値の差も小さい。然し東海区では 1951～53 年級の各当才魚では各々 2, 3, 4 型，1年魚及び 2 年魚以上では各々 2, 1 型と減少するに反し，年級では2年魚以上でも 3 型があり，又各類型の平均脊椎骨数には差が大きい等，著しく南海区とは異つているから，

椎骨の月変化が東海区でも連続的がどうか疑問である。

一方脊椎骨数が渡辺,[21]浅見,[3] 筆者の結果の様に水温と関係がある事は明であるが, Runstrøm(1533).[12] Lissner (1934)[5] 等の云う様に (plasticity 又は lability), race の特徴を示す魚群集団も環境条件によりかなり変化するから, 同一 race のみなら脊椎骨数変化が連続的であり, 異る race を含むなら不連続となり且つ変量が大きい筈である。 但し筆者の云う類型が果して遺伝的か又は単なる産卵群又は地方型 (local form) の様なものかは末だ明でない。従つて race の有無の研究には, 日本全域に亘り観察比較すべきであろう。然しカタクチの資源の研究には, 発生群又は成長群を確実に識別してその移動や成長・魚群集団の大き等が判明すればよいのであるから, 筆者の類型が race でなく単なる発生群・成長群であつても問題ではない。

土井(1957)[4] は "entropy" によつて魚群が判別出来る可能性を報告した。カタクチの年令査定・成長度,或は脊椎骨数測定にも未だ相当の誤差が含まれると推定される故, 此の精度の不確実から来る標本間の x^2 比較にも相当大きい誤差が侵入し, 類型識別を不確実にさせている。従つて此の entropy は, 此の意味に於ても今後検討すべき1方法と云うべきであろう。但し之が何等か魚群を識別する方法となる為には, 異る魚群に同様の精度・個人誤差が作用した時, 異る伝達割合 (R) がもたらされねばならないと思われる。

文献

1) 雨宮, 他 : 水産学会報, 第3号 (1950),
2) 浅見, 他 : 南海水研々究報告, 第5号, 38—58 (1957),
3) 浅見, 他 : 〃 , 第5号, 59—73 (1957),
4) 土井 : 東海区水研々究報告, 第15号 (1957).
5) Lissner, H. : Jour. du Cons. 9 (3), (1934)
6) 中井, 他 : 水産研究所年報, 昭和27年度, (1953).
7) 南海区水産研究所 : 鰛資源調査資料, 昭和26年B輯 (1953).
8) 〃 : 〃 , 昭和27年B輯 (1954).
9) 〃 : 〃 , 昭和28年B輯 (1955).
10) 日本海区水産研究所 : 昭和29年度鰻資源協同研究経過報告, (1956).
11) 〃 : 鰛資源調査資料, 昭和28年B輯 (1955).
12) Runstrøm, S. : Jour. du Cons. 8 (2), (1933).
13) 田村 : 長崎大学水産学部研究報告, 第3号 (1955).
14) 〃 : 〃 , 第4号 (1956).
15) 〃 : 〃 , 第5号 (1957).
16) 田中 : 東海区水研々究報告, 第13号 (1957).
17) 田内 : 日本水産学会九州支部大会講演 (原稿) (1953).
18) 東海区水産研究所 : 鰻資源調査報告, 昭和26年B輯 (1952).
19) 〃 : 〃 , 昭和27年B輯 (1954).
20) 〃 : 〃 , 昭和28年B輯 (1955).
21) 渡辺 : 日本海区水研々究報告, 第2号 (1955).

病原性水生糸状菌の生理生態に関する研究—I.

新崎盛敏・野沢洽治・三宅 真
（東京大学農学部水産植物教室）

On the pathogenetic water mold—I.

Seibin ARASAKI, Koji NOZAWA, and Makoto MIYAKE,

The experiments and observations concerning the life cycle and pH suitable for growth of the pathogenetic *Saprolegnia* spp. isolated from some fungi-diseased fishes, eels and eggs of fish, showed the following results.

(1) Almost all the fungi were identical with *Saprolegnia parasitica* COKER. Some of the rest seemed to be other strain belonging to the same species, but could not be correctly identified. A few were believed to be the other strain that have rather stronger resisting power against malachite green. (Table 1)

(2) In simple-pepton-medium, the micellium continued only to grow, whereas in the dist. water they formed zoosporangia. Gemma were formed in low temperature (below 15°C) or after a long culture-period. Considering that gemma formed numerous zoospores in them, just as zoosporangium did, it seemed that there might be no essential difference between zoosporangia and gemma.

(3) The growth ratio of the mycellium measured in volume, was shown as a sigmoidcurve that had rather long straight part. (Fig. 1)

(4) The same strain had almost the same top-point in optimum pH, near the neutral point, for growing. But some of them seemed to show the after-effect of their native ponds. (Fig 2)
A pH value of the culture-medium gradually approached to the optimum value in the course of culture. (Fig 3) Correlation between growth and pH, in agar-plate-culture was quite different from that in solution culture.

古くから知られている魚類の水生菌病の中で，サケ・マス卵の病害に関しては多くの報文があるが，ウナギ・コイ等の病害に関する研究は少ない。こゝ数年来中部地方の養鰻池において水生菌による被害が屢々発生している。保科・大久保[1]はこの病原菌を *Saprolegnia parasitica* COKER と同定し，これに対する Malachite green の効果をくわしく報じている。

魚卵に水生菌が発生した場合の対策としては，古くは塩水，またはフォルマリン，過マンガン酸カリ等の使用が提案されていたが，充分な成果をあげるまでには到つていない。FOSTER. F. J. & L. WOODBURY (1936),[2] O'DONNEL, D. J. (1941)[3] 等は早くから Malachite green が水生菌病対策に非常に有効であることを報じ，ROGER, E. BURROWS (1949) は一定濃度の Malachite green を含む水が流れるようにした定量サイフォンを考案して大なる成果をあげた。これは我国にも紹介されて (1950) Malachite green の使用は急速に普及し効果をあげている。

ところで Malachite green の適正濃度や水生菌に対する作用機構等については，保科等が固形培地上に純粋分離した菌糸について見た以外は，いづれも孵化中の卵や養殖中の魚によつておこなつた実験結果で，細かい点については不明なことが多い。水生菌に関する基礎的な研究は病害対策を一層有効にするうえからも重要なことであると考えられる。筆者等はこの観点から研究を進めて居り，研究はなお未完成で多くの問題を残しているが，これまでに得られたところをこゝに報告する。*

1. 菌種について

分離は寒天上で行ない，0.5%ペプトン寒天又は 0.5% ペプトン液で培養をおこなつたが，各地の[illegible]あ

1957 年 9 月 3 日受理， * 文部省科学研究費による研究

Table 1. Collected strain

Strain No.	Collection	Property	Species
S_1	The pond of the Faculty of Agriculture Tokyo Univ. pond water	The colony on the agar plate shaped as elouds.	
S_2	The aquarium keeping the tropical fishes. water in tank	formed the sphere sporangium	*Saprolegnia parasitica*
S_3	Red wag sword tail kept in the tank described above. snout	The same above	*S. parasitica*
C_1	Fuji hatchery. caudal fin of rainbow trout		*S. parasitica*
C_2	The mandible of the same fish		*S. parasitica*
C_3	The eggs of rainbow trout that had been treatel with M. G.	resisting against M. G.	unidentified
C_4	Ikawazu eel-ponds. tail of eel		*S. parasitica*
C_5	Ikawazu eel ponds. body of cultured greymulle		〃
C_6	Kasumigaura lake. eggs of *Hypcmesus olidus*		〃
C_7	Kasumigaura lake, eggs of *Hypomesus solidus* treated with M. G.	resisting against M. G.	unidentified
C_8	Oku-Tama hatchery. eggs of rainbow trout treated for long time with M. G.		*S. parasitica*

いは病卵より分離された菌は第一表に示すように *Saprolegnia parasitica* Coker と同定されるものがんどであつた。なお熱帯魚槽の水及びその中で罹病した Red wag sword tail より分離したものは，菌糸形等は *S. parasitica* に似ているが，游走子嚢が球形ないし洋梨形であることや，生長がやゝ遅い点が多異なつている。また Malachite green で処理したマス卵（富士養鱒場）やワカサギ卵（霞ケ浦）から分離たものは Malachite green に対する耐性が非常に強く，低濃度においてはむしろ生長が促進される傾向え見られた（第二報参照)。これは游走子嚢 Gemma 等の形成が見られなかつたので種の査定をおこなうとが出来なかつたが，菌糸が非常に細く生長も遅い。このため普通の場合は生長の早い *S. parasitica* 其におされて認めることが出来ないのであろう。

2. Saprolegnia parasitica の器官形成

実験をはじめるに先立つて游走子嚢，游走子，蔵卵器，Gemma 等を必要に応じて得るために各器官の形条件をしらべた。

古く Klebs[5] は *S. mixta* で外囲条件をかえることによつて游走子嚢や蔵卵器等を自由に形成させる研をおこない，また Coker[6] も培地の相違によつて各種胞子嚢の形成に差があることを観察している。筆等は *S. parasitica* において遊走子嚢，Gemma，游走子等の形成，及び放出，発芽等を自由に制御するとが出来たが，蔵卵器を形成させることにはまだ成功していない。一般に云われているように繁殖は主とて無性的におこなわれているものと思われる。

ペプトン寒天上に純粋分離した菌体の小片を置くか，又は滅菌した麻の実に接種したものを滅菌蒸溜水にれておくと，2 乃至 4 日後には周縁に菌糸が伸び，その一日後には游走子嚢が多数形成される。游走子嚢低温其の他の悪条件におくと游走子を形成しないが，20～21°C におくと内容が分割して急速に遊走子を成し，頂端に開く穴から遊出する。内容が分割しはじめてから游走子が完成する間は約 1～2 分で，直ちにぎ出るが全部が游ぎ出る時間は約 10 秒である。後生遊走子嚢はほとんど貫生し側生するものはまれであ

る。游ぎ出た游走子は頂部に二鞭毛を有するソラマメ形でしばらく泳ぎ廻つた後に休止して第一次休眠胞子となる。約 24 時間後にはこれから出されたと推定される二次游走子が多数見られる。二次游走子は側生する二本の鞭毛を有し，しばらく游泳した後静止して二次休眠胞子となり，これは後発芽して菌体となる。第一次休眠胞子と第二次休眠胞子はよく似ていて識別困難であり，一次休眠胞子が発芽したと思われるような例も観察されたが今後確かめたい。二次休眠胞子は好条件下では間もなく発芽するが，悪条件では休眠を続け約一ケ月後でもなお充分に発芽能力を有している。休眠胞子の発芽生長は 20°C 以上のペプトン培地で盛んであるが，蒸溜水中では 450 μ 程度で止つてしまう。なお清水中で游走子嚢が形成された菌体をペプトン培地に移すと，游走子は形成されずに游走子嚢自体から菌糸が伸長して来る。またペプトン培地あるいは，Czapek 培地中の菌体は生長を続けるのみで液走子嚢形成は見られなかつた。

ペプトン寒天上に培養して三日以上たつたもの，ペプトン液に培養したものを 4～17°C に一週間位おいたもの，培養を始めてから 2 週間以上たつた古いもの等，特殊な条件や環境が悪化した場合には菌糸の先端や側面に Gemma が形成される。Gemma は一般に游走子嚢より大形で，球状，ナスビ形，棍棒形，徳利形，瓢箪形，其の他種々の変化に富んだ形を示し，屢々鎖状につながつていることがある。なお游走子嚢が出来ている菌体を低温其の他の悪条件に移すと，游走子嚢がそのまゝ Gemma にかわつたり，あるいは游走子嚢の先に新しく Gemma を形成するのが見られた。Gäumann[7] によると Gemma (Chlamydospore) は条件が良くなると発芽して菌糸または游走子嚢を形成すると記述されているが，このほかに Gemma を清水中に入れて約 20°C に保つと，12 時間後には内部に游走子が形成され，遊出する。この游出は Gemma に分枝のある時は分枝の頂端から行なわれ，分枝のないときは游走子嚢のように頂端からおこなわれる。又遊出は比較的緩漫で嚢内に一部が残ることが多い。新しいペプトン液中に移し好条件下におかれた Gemma は直接一乃至数本の菌糸を出し正常な菌体に生長した。このように Gemma と游走子嚢との間には機能的に非常に密接な関連が見られる。用語についても Gemma (胚芽，芽胞) あるいは Chlamydospore (厚膜胞子) 等が使われているが，よく検討すべきであると考える。

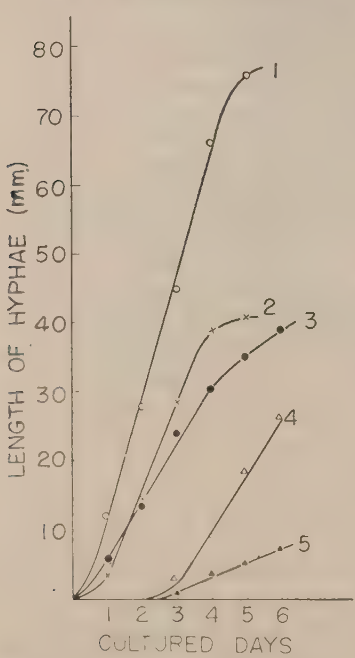


Fig. 1 The growth-curve of mycellium under various conditions :
1. *S. parasitica*, in normal pepton-soln.
2. 〃 , on normal pepton-agar-pl.
3. 〃, in pepton-soln. with 0.01 ppm. M.G.
4. Strain C, in normal pepton-soln.
5. 〃 , pepton-soln. with 0.1 ppm M.G.

3. 生　　長

Saprolegnia parasitica は固体培地では放射状にひろがり円形を示し，液体培地では球形またはやゝ扁圧状になり，試験管内では管径一ぱいに円柱状に伸長する。従つて生長の測定は固体培地では円の半径を，液体培地では試験管を用いて円柱の高さを測定した。

正常の液体培地で得られる生長曲線は第 1 図に見られるように直線部の非常に長いシグモイドとなり，直線部は接種後一日目から四日目まで追跡できる。これに反し Malachite green によつて生長を阻害したものでは三日乃至五日目に直線になり，その勾配も阻害の強いものほど緩やかになる。固体培地では半径をそのまま縦軸にとつてグラフを書くと，曲線は次第に水平になるが，半径の二乗をとると明確なシグモイドとなる。しかしこの場合は直線部分がやや短かく，また後にのべるように誤差も大きいと思われるので実験は主として液体培地でおこなつた。測定を厳密にするためには各々について生長曲線を追跡して比較すべきであろうが，多くの材料を処理する必要から接種後三日又は四日たつて生長がもつとも定常的におこなわれ，しかも夫々の差の大きくなる時期に測定して標準とした。

生長曲線の直線部において，固体培地では半径の二乗即ち面積と生長が比例し，液体培地では円柱の高さが生長に比例する

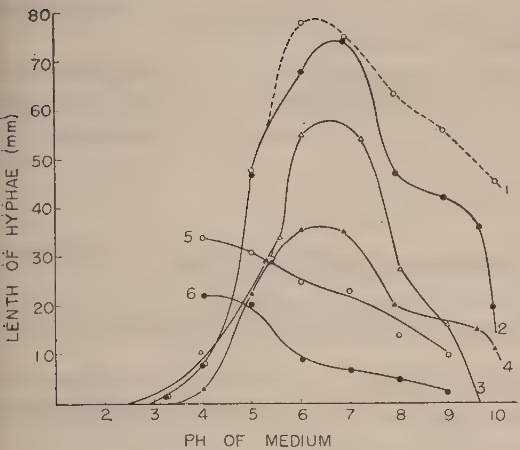


Fig. 2 The growsh of the fungi in various pH.

と云うことは，固体培地では菌は平面的に生長するため面積と体積は等しく，液体培地では円柱の高さが体積に比例していることから考えて，ともに菌の体積が時間に比例して増加していることを示している。

4. pH と生長との関係

水生菌の発生や生長と pH との関係については，孵化中のサケ卵についておこなつた研究があるが[8] 筆者等は純粋分離したものについて生長可能範囲及び至適 pH をしらべた。実験した pH の範囲は 2 から 11 の間で，その測定は比色法によつた。従つて両端はやや不正確である。又測定は培地の滅菌後と実験終了後の二回おこない，固体培地の場合だけは実験前のみおこなつた。

結果はまとめて第 2 図に示した。先づ注目されることは液体培地とのいちぢるしい相異で，液体培地では一般的に至適 pH が 6 から 7 でこれより両側へへだたるに従つて急に生長が悪くなる。しかるに pH 4 から 9 の間について実験をおこなつた固体培地では pH 4 でもつともよく生長し，pH が高くなるに従つて生長が悪くなり，しかも生長の良否の差は液体培地におけるほど大きくはあらわれなかつた。この相異がいかなる理由によるものか明らかではないが，種々の実験をおこなう上に考慮すべきことであろう。

個々の菌株の至適 pH は，起原を異にする菌株でも同種の菌ではほぼ一致し，S_2，S_3，及び C_1，C_2，C_4 C_5，C_6，C_8 等は殆んど同じである。ただし同じく *S. parasitica* と同定されるにもかかわらず C_1，C_2，等に比して C_4，C_5，はアルカリ側における生長の低下がゆるやかである。C_1，C_2 はマスから分離したも

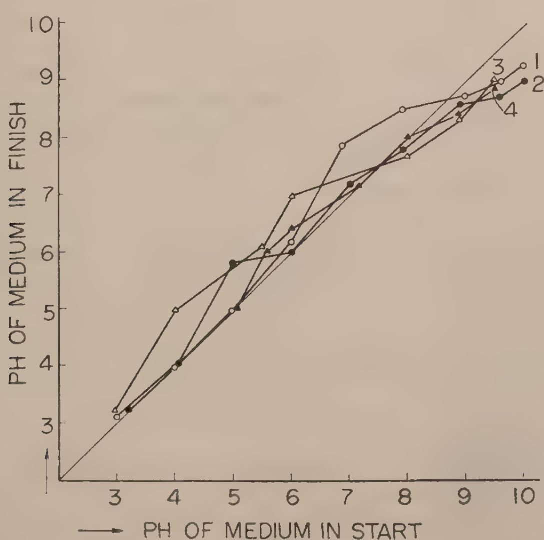


Fig. 3 The change of pH of media (pepton-soln.-media) in the course of culture.

ので，それが生育していた水の pH は 7.2 から 7.6 であり，他方 C_4, C_5, はウナギ及びボラより分離したもので，生育していた池の pH は Blooming のために 7 から 9.8 の間にあつた。 これ等の影響が考えられるが，こうした適応現象については慎重に検討すべきであろう。

実験の前と後における pH の差を見ると（第3図），S_1 は適応範囲が広いため大きな変化は示さないが，大体 7 乃至 8 に収斂し，S_2, S_3, 及び C_1, C_2, は明瞭に中性附近に収斂するが，C_4, C_5, はむしろアルカリ側に収斂する傾向を示しており，さきにのべたように C_4, C_5, がアルカリに対する適応性が広いこととともに興味あることである。

文　　献

1) Hoshina, T. and M. Ookubo : On a fungi-disease of eel. Jour. of Tokyo. Univ. Fish. 2 (1). 1956.
2) Foster, F. J. and L. Woodbury : The use malachite green as a fish fungicide and antiseptic. Prog. Fish-Cult. 18, 7～9. 1936.
3) O'Donnel, D. J. : A new method of combating fungus. Prog. Fish-Cult. 56, 18～30. 1941.
4) 水産庁漁政部漁業調整第二課 : 鮭鱒卵の人工孵化における水生菌の予防処理，内水面漁業資料 第三輯. 1950.
5) Klebs, G. : Willkürliche Entwickelungsänderungen by Pflanzen. Jena, 1903.
6) Coker, W. CH. The Saprolegniaceae, Chapel Hill. 1923.
7) Gäumann, E. A. : The fungi. New York. 1952.
8) 田中林蔵 : 水生菌の発育に及ぼす水素イオン濃度の影響，水雑誌 51. 25～30, 昭 18. 1943.

ねり製品の内部腐敗に関する研究—I. 加熱温度と残存細菌

横 関 源 延
(北海道区水産研究所)

Studies on the Internal Spoilage of Fish-Jelly Products—I Surviving Micro-organisms in Fish-Jelly Prducts Cooked at Different Temperatures

Motonobu YOKOSEKI

The wide variance of cooking temperature AMANO[1] described about commercial preparations of fish-jelly products suggests that marked differences may be present between different kinds of such products also in regard to the strain of microbial flora as well as the number of microorganisms surviving in them.

In this paper, this author reports a few results of experiment relevant to surviving micro-organisms in fish-jelly producto and 'fish-sausages' heated up to different temperdtures

A considerable number of micrococci were isolated from the products having remained below 70°C. at the core during cooking. In the products cooked above 75°C., on the other hand, a few spore forming bacilli were found as the only survivors (Table 1).

The microbial flora surviving in the fish-sausages which contained potato starch and were cooked as high as 75°C., to 90°C consisted mainly of strict aerobic organisms such as *B. megatherium*, *B. subtilis* and *B. cereus* (Table 2).

ねり製品を製造する際の加熱操作は極めて重要な工程であつて，加熱によりカマボコ特有の弾力が形成さ
れると同時に，すり身中に存在する微生物は漸次死滅していく。

ところで，実際に採られている加熱温度は澱粉添加の有無及び使用澱粉の種類の相異，更に原料魚の種類等により，必しも一定でないことが先に天野等[1]の調査の結果明かにされた。加熱温度の相異は当然残存細菌の量及び性質に影響を及ぼすであろうし，ひいてはその腐敗にも重要な影響を与えると考えられる。[2]殊に二次汚染が防止されている状態，例えば包装されたカマボコや魚肉ソーセージ等においては，包装内部の残存細菌の多少及び性質は製品の腐敗に対して決定的な影響を及ぼすことになるわけである。既にカマボコの表面腐敗に関与する微生物については木俣[3) 4)]の詳細な報告があるが，内部腐敗に関与する微生物及びこれ等が繁殖する条件等についての報告は少いようである。更に最近多くなつてきた包装カマボコ或は魚肉ソーセージ等の内部腐敗の研究は，これ等製品が貯蔵性を主眼とする点から見て極めて重要である。今回は加熱温度の上昇にしたがい，細菌が死滅していく状態と，これ等細菌の性質とを観察したので報告する。

実 験 方 法

(1) **試 料**： 実験に使用したねり製品は，特に本実験のために作成させたものではなく，日常市販品として製造している様式に従つて作製させた工場製品である。ねり製品の温度測定には大型注射針型の熱電対を加熱前に各製品の中心部に挿入して置き，加熱箱或は釜外で遂次温度を測定した。製品がそれぞれ 60°, 65° 70°, 75°, 80°, 85°C の温度に達したならば取出して水で冷却した。実測された中心部温度の上昇様式

1957 年 8 月 2 日受理

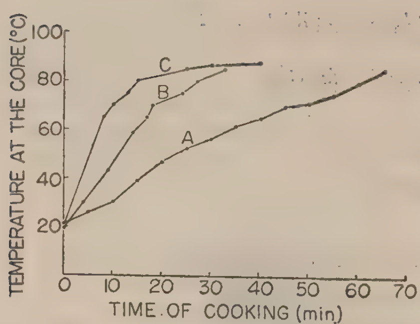


Fig. 1 The rate of heat penetration at the core of fish-jelly product used for the experi-ment.

A: Kamaboko 1. Size, 4.3×6.2×13.0 cm
B: Kamaboko 11. Size, 4.0×6.0×12.0 cm
C: Fish-sausage. Size, 16.0 cm in length and 3.5 cm in diameter.

はFig. 1 の通りであつた。ただし，小田原型カマボコは普通中心部温度 75°C以上には加熱しないのであるが，この場合は特に加熱を続けて 85°Cにまで達せしめた。このように調製したねり製品の中心部をとつて，細菌分離用の試料とした。なお製品はいずれにも防腐剤は入つていなかつた。

(2) 培　地：細菌分離用培地はペプトン 1%，肉エキス 0.5%，食塩 3%，寒天 1.5%を基本培地とし，含糖製品用にはその製品の含有量だけの蔗糖を基本培地に加えた。食塩を特に 3%にしたのは，ねり製品の含塩量が一般に 3%前後だからである。

(3) 細菌の培養，生菌数の測定および分離：加熱冷却直後の試料の中心部を滅菌海砂少量と共に磨砕し，適当に滅菌水で稀釈して得られた懸濁液 1 cc を滅菌ペトリ皿に注入した後，培地を注いだ。好気培養はそのまゝ 25°C に 3～4 日培養した。嫌気培養は酸素吸収と水素置換とを同時に行う Rosenthal[5] のクロム硫酸法を使用した。この場合嫌気度の指示薬として，メチレンブルーを用いて調べたが，色素は室温で約 1 時間後には完全に脱色された。培養は 25°C，6～10 日間行つた。培養後培地上に生じたコロニーを 10 倍のルーペで数えた上で分離を行つた。菌株の分離はシヤーレを適当の大きさに区切り（大体 20 株程度になるように），その中のコロニー全部を取つて純粋培養した。実験 2 に於ては性質の異ると思えるコロニーを取るようにした。なお特にことわつてないものは普通の好気培養である。

実験結果と考察

ねり製品に使用される馬鈴薯澱粉中には，熱に対して抵抗力の強い細菌が多量に存在していることが，木俣[6] 及び著者[7] 等によつて先に報告されている。そこで澱粉含有製品と無澱粉製品に別けて，その残存細菌を検索した。

1. 無澱粉製品の残存細菌

シログチを原料とした小田原式カマボコについて実験を行つた。

実験は東京，横浜，小田原の各代表的なカマボコ工場で各々一回ずつ行つたが，結果は大体同様であつたので，そのうち 2 例を示すと Table. 1 の如くである。

Tahle 1 に示したように，加熱温度の上昇にしたがい，すり身中に存在する微生物は次第に死滅減少していく。最初の摺身中に 1.7～4.0×10^7 程度存在した菌も，温度が 85°C に達すると 6.0～7.0×10 と激減する。殊にすり身中に多量に含有すると思われる無芽胞桿菌は 65°Cに加熱されることにより殆んど検出されなくなつた。このことから無芽胞桿菌の熱抵抗は，球菌類より弱いことが推察される。球菌は相当に熱抵抗が強く，70°Cに加熱してもなお死滅しない。75°C以上に中心部温度が上昇すると，球菌類は死滅し，熱抵抗の強い有芽胞桿菌のみが残つていて分離される。無澱粉製品には，有芽胞桿菌類の残存は殆んど無いと，今まで想像されていたのであるが[2]，今回の実験結果によると，相当加熱された製品でもこの種細菌がある程度残存することは否定できない。このように 70°C と75°C とでは残存菌の組成が急に変るのであるが，試料 1 ではそれに応じて生菌数が変化してはいない。この理由は球菌の生育により有芽胞桿菌の生育が阻害されるせいか，或は分離の不手ぎわのせいか，今のところ不明である。

嫌気培養においては，すり身と 65°C 加熱製品からの培地上には細菌の発育が認められるが，75°C 以上になると全く発育しなかつた。従つてこれら嫌気状態において発育できる菌は 75°C以上に加熱することにより全く死滅するか，或は極めて少数になるものと考えられる。しかもこゝに発育した菌はは全部好気状態においても発育したから，偏性嫌気菌ではなく，通性嫌気菌か微好気性菌であるといえよう。原料の汚染度

Table 1. Number of surviving bacteria in the interior portion of unstarched fish-jelly product immediately after heating.

Temperature at the core of sample	I				II			
	Aerobic culture		Anaerobic culture		Aerobic culture		Anaerobic culture	
	Number of viable bacteria in lgr.	Type of strains	Number of viable bacteria in lgr.	Type of strains	Number of viable bacteria in lgr.	Type of strains	Number of viable bacteria in lgr.	Type of strains
Raw material (Surimi)	1.7×10^7	—	1.6×10^6	—	4.0×10^7	Cocci, non-spore forming and spore forming rods	7.0×10^5	Facultative anaerobic cocci
65°C	7.2×10^4	Cocci	2.1×10^2	Facultative anaerobic cocci	3.4×10^5	Cocci	1.2×10^3	Facultative anaerobic cocci
70	1.8×10^4	Cocci	0	—	2.4×10^5	Cocci	0	—
75	1.3×10^4	Spore-forming rods	0	—	1.8×10^4	Spore-forming rods	0	—
80	2.2×10^3	Spore-forming rods	0	—	—	Spore-forming rods	0	—
85	6.0×10	Spore-forming rods	0	—	7.0×10	Spore-forming rods	0	—

は鮮度，取扱の相異等により異るが，この培養条件で知り得た範囲内では少くも 70°C以上に加熱されたカマボコ中には嫌気状態に生育できる菌は全く存在しないか，或は存在するとしても，極めて僅かなのではあるまいか。この事は，先に報告[2]したように，カマボコを嫌気状態で貯蔵すると相当長期の保蔵ができることを裏書する一つの基礎事実を与えるものと考えられる。

ここに用いた３種の試料においては互に汚染度も異り，温度の上昇様式も異つているにもかゝわらず，加熱温度が一定ならば残存菌種に見られる傾向も一定であることは興味深く思われる。

2. 澱粉含有製品の残存細菌

クロカワカジキを原料とし，馬鈴薯澱粉を７％添加した（食塩，グルタミン酸ソーダ，香辛料等添加）魚肉ソーセージについて実験した。含糖と無糖に別けて実験したが，含糖製品は５％の砂糖（甘蔗糖）を含有する。

Table. 2 に示したように，すり身中の微生物は漸次死滅していくが，その減少は無澱粉の場合より緩慢で

Table 2. Number of surviving bacteria in the interior portion of starched fish-sausage immediately after heating

Temperature at the core of sample	Unsugared fish-sausage		Sugared fish-sausage	
	Number of viable bacteria in lgr.	Isolated strains	Number of viable bacteria in lgr.	Isolated strins
60°C	5.3×10^5	10 strains { Micrococcus varians ……6; Baillus megatherium ……1; Micrococcus epidermidis 1; Bacillus firmus …………2 }	—	—
65	7.3×10^4	4 strains { Bacillus megatherium …2; Bacillus firmus …………1; Bacillus subtilis …………1 }	6.1×10^4	8 strains { Bacillus coagulans ……2; Bacillus megatherium 6 }
70	6.3×10^4	1 strains…Bacillus coagulans	5.0×10^4	—
75	3.8×10^4	—	3.2×10^4	—
80	—	—	1.0×10^4	—
85	—	—	5.6×10^3	—
88	8.1×10^3	2 strains { Bacillus subtilis …………1; Bacillus megatherium …1 }	7.5×10^3	4 strains…Bacillus cereus

ある。無澱粉製品の 85°C加熱では 6.0~7.0×10 程度の生存菌数であつたのに対し，含澱粉製品では 8 °C（製品）でもまだ 7.5~8.1×10³ の生菌が残存する。これは澱粉中に存在した耐熱性菌に由来するのであろう。砂糖を添加した製品としない製品との相異は好気培養の生菌数については殆んど見られなかつた。一方嫌気培養の結果によると，80°C加熱以下の含糖製品から *Leuconostoc dextranicum* が純培養のかたちで生育してきた。その外嫌気培養において，*Clostridium* 属の菌は検出されなかつたが，採用した ROSENTHA 法が，このような場合果して適当であるかどうか検討する余地があると考えられる。現在カマボコ内部の物理化学的性質を追求中なので，この結果をまつて嫌気性菌に最適の培養法で再検討する予定である。井野[8]は膨脹魚肉ソーセージの原因菌として，*Cl. sporogenes*, *Cl. we'chiii*, *Cl. butyricum* を分離し，これ等は鮮肉以外に加熱直後の製品にも検出されることを報告している。

好気培養において生育する菌を純粋分離し，BERGEY[9] にしたがつて検索してみると，種々雑多な菌が残存しているが，60°C までは *M. varians*, *M. epidermidis* 等の球菌類が多く分離されるのに対し，65°C 以上になると，*B. megatherium*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. firmus* 等の有芽胞桿菌のみが分離される。無澱粉の場合には加熱温度が 75°C以上になつて始めて球菌類が検出されなくなる点，含澱粉の場合と多少異なるが，澱粉製品では澱粉から来る有芽胞桿菌の絶対量が多いために，球菌がたとえ生存していても分離される機会が少いのであろう。木俣[6] 並に著者[7] の報告によると，ねり製品に使われる馬鈴薯澱粉中には 80°C の加熱に耐える菌が 1g中 10³~10⁴ 程度存在し，*B. megatherium*, *B. subtilis*, *B. circulans*, *B. cereus* 等が主体をしめていることが明かにされている。

いずれにしろカマボコ中の生存菌は加熱により漸次死滅してゆき，75°C以上になると殆んど *Bacillus* のみとなるが，これ等 *Bacillus* 属特に *B. megatherium*, *B. subtilis*, *B. cereus* 等は相当の高温加熱によつてもなかなか死滅しないことがわかる。

摘　　要

1) ねり製品のすり身を整形して加熱する際に，中心部温度がそれぞれ 60°, 65°, 70°, 75°, 80°, 85°C に達したものを取出して，中心部の残存細菌を調べた。

2) 無澱粉製品では 70°C以下の加熱製品からは球菌類が主に検出されるのに対し，70°C 以上になると球菌は全く検出されず，有芽胞桿菌が僅かに残存する。

3) 70°C 以上に加熱された製品からは，嫌気培養では細菌類は全く検出されない。

4) 澱粉含有製品では無澱粉製品に比べて，生菌数の加熱による減少は緩慢であつて，60°C 以上に加熱されると，検出されるのは含糖，無糖製品共に *B. megatherium*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. firmus* などの有芽胞桿菌だけになる。これは澱粉中に存在する耐熱性有芽胞桿菌が多いせいだと思われる。

終りに種々御懇切な御指導をいたゞいた，東海区水研天野慶之博士に厚く感謝の意を表する。

文　　献

1) 天野慶之，内山均，福田正彦，河端俊治，高瀬明：本誌，**20** (9)，816~829 (1955).
2) 横関源延，大島浩，笹島正秋：北海道区水産研究所研究報告，**11**，82~89 (1954).
3) M. KIMATA：Memories of the College of Agriculture, Kyoto University, No. 59, 68~81 (1951)
4) 木俣正夫：本誌，**16** (12)，46~49 (1951).
5) L. ROSENTHAL：J. Bact., **34**, 317 (1951).
6) 木俣正夫，河合章：本誌，**16** (12)，55 (1951).
7) 横関源延，大島浩：北海道区水産研究所研究報告，**5**，21~29 (1952).
8) 井野米次：腐敗研究所報告，**7**，31~42 (1954).
9) R. S. BREED et al：“Bergey's Manual of Determinative Bacteriology”，6 th ed., 1948. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.

ねり製品の内部腐敗に関する研究—II
加熱温度と腐敗

横関源延
(北海道区水産研究所)

Studies on the Internal Spoilage of Fish-Jelly Products……II. Relationship Between Cooking Temperatures and Spoilage

Motonobu YOKOSEKI

In the present paper, the author reports the results of several experiments carried out to know the difference in microbial flora that grows during storage in the inner part of fish-ielly products and fish-sausages prepared by heating at different temperatures.

With samples cooked below 70° C. and stored for 10 days at 24° C. considerable changes were observed in the microbial flora and pH, while those cooked above 75° C. showed no appreciable changes (Table 1).

Strept. faecalis and *Leuco. dextranicum* were the main grower in the sugared fish-sausage, while *Cl. tertium* was prominent in the unsugared products. These organisms are all facultative anaerobic or microaerophilic, capable of growing in the anaerobic condition. But strict aerobes such as *B. megatherium*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. lentus* and *B. firmus* were not growing in sausages (Table 2).

On the basis of above findings, it may be said that the inner part of fish-cakes was kept in anaerobic or microaerophilic condition.

ねり製品を製造する際の加熱温度は，全国を通じて同一加熱温度を採用しているわけではなく，地方により様々であることが天野等[1]により先に報告されている。一般に関東では比較的低く，関西では高い。この相異の主な原因は，関東では馬鈴薯澱粉を用い，関西では主に小麦澱粉を使用することにあると推察されている。このような加熱温度の相異は当然製品中に残存する微生物にも影響を及ぼす筈である。第1報[2]に於て，種々なる温度に加熱された製品中の残存細菌について報告したが，それによると，70°C 以下の加熱では球菌類の残存が多いが，75°C 以上になると主として有芽胞桿菌が検出される。又無澱粉製品に比べると含澱粉製品では同一加熱でも残存菌数は多い。本報告ではこのように残存する細菌類が製品貯蔵中，製品内部でどのように繁殖して製品の腐敗に関与するかを検討したので報告する。

I 実験方法

試料カマボコは第1報に於て報告した試料をそのまま貯蔵して実験に供した。即ち，無澱粉製品はシログチ単用の小田原カマボコであり，含澱粉製品としてはクロカワカジキを原料とし，馬鈴薯澱粉を添加した塩酸ゴム包装の魚肉ソーセージを用いた。細菌分離用培地及び培養法は前報で用いたと同様な培地並に方法を採用した。pH の値は硝子電極 pH メーターによつて測定した。

II 実験結果

1. 無澱粉製品の加熱温度と内部腐敗

前報に於て使用した無澱粉の小田原カマボコを二次汚染を防ぐために大型シャーレに入れ，更に内部の残存細菌のみの影響を見るために外面に，1％昇汞を塗布して 22°～24°C の室温に 10 日間放置した後，内部について pH 並に生菌数の変化を測定すると同時に官能的観察を行つた。Table 1 に示すように，実験開始時の pH と 10 日目の pH を比較すると，pH 低下の最も著しいのは 65°C 加熱の製品であり，70°C 製品

1957 年 8 月 2 日 受理

Table 1. Organoleptic observation and changes in the number of bacteria during 10 day storage in the inner part of fish-jelly product cooked at different temperatures.

Temperature at the core of sample	Days of storage 0		10			
	pH	Number of viable bacteria in lgr. developed on aerobic culture	pH	Number of viable bacteria in lgr. developed on aerobic culture	Number of viable bacteria in lgr. developed on anaerobic culture	Edible or not
65 °C	7.10	7.2×10^4	4.98	2.3×10^8	5.7×10^7	not
70	—	1.8×10^4	5.73	2.0×10^8	$<10^5$	not
75	—	1.3×10^4	7.20	3.5×10^6	$<10^5$	edible
80	—	2.2×10^3	7.15	$<10^5$	$<10^5$	edible
85	7.12	6.0×10	7.04	$<10^5$	$<10^5$	edible

でも低下の傾向は認められるが，75°C 以上の製品になると低下の傾向は殆んど認められない。又官能検査に於ても 65°C と 70°C 製品は明らかに異臭を感じさせ食用不能と判定されるが，75°C 以上の製品は貯蔵10日目に於ても尚食用可能であつて pH 変化が示唆する所とよく一致した。この pH の低下は細菌の繁殖に由来すると推定される。何となれば菌数測定においても 70°C 以下の製品は菌数の増加が著しいのに対し，75°C 以上の製品は著しい増加が見られないからである。

このように 70°C 加熱と 75°C 加熱製品との間で，その腐敗の速度に著しい相異を生じる原因は，残存細菌の数に殆んど変りがないが故に単に細菌数の相異によつて説明することはできない。むしろ最初に残存した細菌相(becterial flora)の差異がこのような影響を及ぼしたものと考える方が妥当であろう。即ち 70°C 加熱に於てはグラム陽性の球菌類が死滅せずに残存しており,[2] これ等が有芽胞桿菌よりも容易に発育するような条件がカマボコ基質にあるものと像想される。又 Table 1 の pH については，75°C 加熱のとき最高を示し，80°, 85°C と高くなるにしたがい多少 pH が低下し，変質を思わせる傾向が見られる。最初の細菌数は逆に 85°C 試料で最も少く 80°, 75°C と加熱温度の低下するにしたがい多くなつており，しかもこれら細菌はいずれも大体同様な性質をもつた有芽胞桿菌であつたから，残存細菌数とその性質からはこの現象を説明することはできない。そこで加熱温度の上昇によりカマボコ基質に何等か細菌の代謝にとつて好都合な環境の変化*がおこり，それが上述のような加熱温度上昇と pH 低下との関係をもたらしたものと考えられよう。

2. 含澱粉製品の加熱温度と内部腐敗

前報で使用した，塩酸ゴムで包装した含澱粉の魚肉ソーセージを試料とし，これを 25°C の恒温器中に放置して観察した。結果は Table 2, Table 3 に示した。この結果を前報で報告した加熱直後の残存細菌と比較

Table 2. Viable bacteria in fish-susages heated at different temperatures and stored for 14 days at 25°C

Temperature at the core of Sample	Unsugared fish-Sausage		Sugared fish sausage	
	Number of viable bacteria in lgr.	Isolated strains	Number of viable bacteria in lgr.	Isolated strains
65°C	3.2×10^7	—	5.2×10^8	—
70	1.1×10^6	3strains…Clostridium tertium	1.1×10^8	5strains Streptococcus faecalis
75	2.3×10^5	3strains…Clostridium tertium	7.5×10^6	—
80	—	—	5.8×10^5	4strains {Leuconostoc dextranicum 2, Streptococcus faecalis 2}
85	—	—		
88	2.7×10^3	3strains…Bacillus lentus	6.5×10^5	—
			1.6×10^4	1strain…Bacillus firmus

* 岡田は[3] グチ肉すり身を用い 75°C から 85°C の間では加熱温度の上昇するにしたがい，カマボコのいわゆる足一従つてその固態性一がかえつて低下する現象を観察している。

してみると，無糖，含糖製品共に 65°C, 70°C のような低温加熱では内部の生菌数が相当に増加している。殊に含糖の方がその増加はいちぢるしい。このような増加が，いかなる菌によるものかを，Bergey [4] にしたがつて同定してみると，無糖では *Clostridium tertium* 含糖では *Leuconostoc dextranicum*, *Streptococcus faecalis* であつた。但しこのような菌も 88°C のような高温になると検出されない。このうち *Cl. tertium*, *Strept. faecalis* は加熱直後の分離の際には検出されなかつたが[2], それは存在しなかつたのでなくて，極めて少数であつたことを示すものと思われる。しかし製品はむしろその菌に好適な発育環境であるがために後になつてから他の菌に優つて繁殖したのであろうと考えられる。細菌分離用培地中での *Leuco. dextranicum*, *Strept. faecalis* の耐熱性を試験してみたところ，*Strept. faecalis* は 70°C 10分，75°C 10分，80°C 1分 では死滅せず 80°C 5分 で始めて死滅する。又 *Leuco. dextranicum* は 70°C 1分では死滅しないが，70°C 5分では死滅するとの結果が得られた。魚肉すり身では遙かに死滅し難くなると推量されるから[5], 80°C 加熱製品からこのような無芽胞菌が得られたからといつても不思議ではないであろう。

これに対し 88°C のような高温に加熱された製品においては，生菌数は最初に存在した残存数に比較しても殆んど増加しておらず，このような製品から分離される菌は残存菌と同様な有芽胞桿菌に属する *B. lentus*, *B. firmus* である。又 Table 3 の pH 測定結果をみると，低温加熱製品殊に含糖製品では明らかな pH 低下が見られるが，無糖製品では低下の傾向は認められず，生菌数の増加から期待される所とよく一致している。14日目の官能検査の結果も，含糖では 88°C, 85°C 無糖では 88°C, 75°C に於ては殆んど変化がみられないが，それより加熱温度の低い製品では加熱温度の低下するにしたがい，酸味が増加し，食味が悪くなる。

Table 3. Changes in pH of fish-sausage heated at different temperatures and stored for 14 days at 25°C.

Temperature at the core of sample	Unsugared fish-sausage			Sugared fish sausage		
	Days of storage			Days of storage		
	0	6	14	0	6	14
65 °C	6.03	6.02	5.93	5.97	5.40	5.01
70	—	6.02	5.99	—	5.92	5.53
75	—	6.03	6.32	—	5.93	5.94
80	—	—	—	—	5.91	5.83
85	—	—	—	—	5.99	5.99
88	6.12	6.17	6.16	6.07	6.09	6.05

Ⅲ 考　　察

カマボコの内部或は魚肉ソーセージに於ては，加熱直後に残存する細菌がそのまゝ繁殖して製品の腐敗に関与するのではないようであつて，その中の限られた種類の菌が主として繁殖することが確められた。このようにねり製品内部には或る種の菌を特異的に繁殖せしめ，他種の菌の繁殖を抑制する条件が存在するようである。これは前から [6] [7] [8] 推察してきたことであるが，その条件の一つとしてねり製品内部の酸素分圧，即ち嫌気度が大きく効いているものと考える。このような考え方の当否をしらべるために，次に下記のような培地を用いて，前報及び今回分離した菌の酸素に対する性質を観察した。

培地 { ペプトン 1%, 肉エキス 0.5%, 食塩 3%, ブドウ糖 0.2%, チオグリコール酸 0.3cc/1*l*, 0.1% レサズリン 1cc/1*l*, pH 7.0, 含糖製品から分離した菌の培養にはこれに 5%の甘蔗糖を加える。

この培地は普通無菌試験に用いられる，チオグリコール酸培地をねり製品からの分離菌に適するように改変したものである。培地調製直後は加えた色素レサズリンが還元されて無色となつているが，培養を行う間に空気中の酸素のため，高層の上部から内部に向つて次第にピンク色に酸化着色し，25°C 2日で大体表面下 5 mm まで着色するようになる。好気性菌は培地表面或は着色帯の範囲内によく繁殖し，嫌気性菌はレサズリンが発色しない所によく繁殖するといわれている。試みに缶詰から分離した偏性嫌気性菌である *Clostridium sp.* をこの培地に懸濁培養したところ，レサズリンの着色下限から深部によく生育した。

この培地に分離菌を懸濁して培養すると，その菌の最適の層に発育してくる。例えば 25°C 2日培養の結果によると，加熱直後から多量に存在したがその後になつても殆んど繁殖しなかつた所の *B. megatherium*, *B. subtilis*, *B. lentus*, *B. firmus*, *B. coagulans* 等は高層の表面に最もよく生育し， 表面下 0.5～1.0 mm まで僅かに繁殖するが，それより深部には全く発育しない。ただ *B. coagulans* のみがレサズリンの着色下限（表面下約 5mm）まで僅かに繁殖する。即ちこのような菌は酸素の豊富な上部のみにしか生育しない偏性好気性菌である。一方ソーセージ貯蔵中， 主に繁殖する *Strept. faecalis*, *Leuco. dextranicum* は表面発育は僅かで，培地全層に均一によく繁殖し，微好気性菌 （microaerophil） 或は通性嫌気性菌であることを示している。以上の結果から，ねり製品内部で主として繁殖する細菌は嫌気状態で発育できる細菌であつて，好気性菌は殆んど繁殖していないようであつた。このことはねり製品内部が嫌気的状態になつていることを示す証拠であると考えてさしつかえないであろう。もつともねり製品の使用魚種，加熱温度，製法等は種々さまざまであるから，内部の嫌気度も均一ではなく，貯蔵中に於ける酸素の浸入の状態も一定していないことが推察される。しかし魚肉ソーセージはケーシングにより外部からの細菌汚染を防ぐと共に，酸素の浸入も防いでいるわけであるから，無包装の製品より嫌気状態が永く維持されることが想像される。このような事態は高温加熱によつても死滅しないで残存する好気性有芽胞桿菌の発育を阻止し，長期の保存に耐える製品を与える一つの条件になつているものと考えられる。 最近井野[9] は膨脹した魚肉ソーセージから *Cl. sporogenes*, *Cl. welchii*, *Cl. butyiricum* 等の偏性嫌気菌を分離し，このような菌は加熱直後にも残存していることを報告している。勿論魚肉或は使用澱粉の汚染は複雑であつて， このような強力な嫌気性菌の汚染を否定するわけにはいかないが，防腐剤を加えなくても魚肉ソーセージが事実長期保存に耐える理由は，むしろ加熱に耐えて残存する者は一般的に好気性有芽胞菌であるせいか， 或は *Clostridium* が残存するとしても極めて僅かなせいではあるまいか。

摘　　要

1) 各種温度に加熱され残存細菌に就いては疑点の無いような無澱粉並に含澱粉ねり製品を貯蔵し，これ等残存細菌の製品内部における繁殖，即ち腐敗に関与する状態を検討した結果次のことが明らかとなつた。

2) 無澱粉製品では70°Cまでの加熱製品の変化が激しいのに対し，75°C 以上に加熱された製品は殆んど変化を示していない。70°C 以下の製品に当初残存した球菌類の影響がこのような差異を招くと考えられる。

3) 澱粉を含有した塩酸ゴム包装の魚肉ソーセージでも，無糖では 75°C 以上，含糖では 85°C 以上に加熱された製品は生菌数並びに pH に殆んど変化を来さないが，それ以下の加熱温度製品では変化が著しい。

4) 製品内部に繁殖する主な細菌は無糖では *Cl. tertium*, 含糖では *Leuco. dextranicum*, *Strept. faecalis* であつて，このような菌は嫌気的条件によく繁殖できる。一方初期多量に残在した *B. megatherium*, *B. subtiliss*, *B. cereus*, *B. lentus*, *B. firmus*, *B. coagulans* 等の有芽胞桿菌は殆んど繁殖せず，このような菌は酸素濃度の高い，培地の表面のみにしか繁殖しない。

5) 以上の事実から，ねり製品内部は嫌気的状態になつており，この状態が残存細菌の性質と共に腐敗を遅らせるように大きく影響していることを推論した。

終りに種々御懇切な御指導をいたゞいた，東海区水研天野慶之博士に厚く感謝の意を表すると共に常に討論と御助言をいたゞいた東海区水研内山，岡田両技官に感謝する。

文　　献

(1) 天野慶之，内山均，福田正彦，河端俊治，高瀬明，本誌，**20**, 816～829(1955).
(2) 横関源延 ： 本誌，**23**, 539～542 (1957).
(3) 岡田　稔，山崎惇子 ： 日本水産学会秋期大会（広島）講演 (1956).
(4) R.S. Breed, E.G.D. Murray and A.P. Hitchens : Bergey's Manual of Determinative Bacteriogy, 6th ed., (1948).
(5) 河端俊治，高瀬　明，天野慶之 ： 本誌，**20**, 835～845 (1955).
(6) 横関源延，大島　浩，笹島正秋 ： 北水研研究報告，**11**, 82～89 (1954).
(7) 内山　均，天野慶之，横関源延 ： 本誌，**21**, 441～447 (1955).
(8) 横関源延，内山　均，天野慶之 ： 本誌，**22**, 35～40 (1956).
(9) 井野米次 ： 腐敗研究所報告，**7**, 31～42 (1954).

魚体のコハク酸脱水素酵素に関する研究—I. 2, 6-Dichlorophenolindo-*o*-chlorophenol による比色測定法について

福 田 博 業
（宮崎大学農学部水産化学教室）

Studies on the Succinic Dehydrogenase of Fish——I. Determination of Succinic Dehydrogenase Activity in Fish-Organs with 2, 6-Dichlorophenolindo-*o*-chlorophenol

Hironari FUKUDA

The present report deals with a proposal of a rapid method for the determination of succinic dehydrogenase in fish tissues.

The reaction system consists of 2.0 ml. of 0.1 M Na-succinate, 0.3 ml. of 0.1M KCN, 2.0 ml. of 0.1 mM Na-dichlorophenolindo-*o*-chlorophenol, *a* ml. of enzyme soln. (10 % suspension of homogenized sample tissue), and (5.7−*a*) ml. of 0.1 M KH_2PO_4-Na_2HPO_4 (7 : 3) buffer solution.

The enzyme solution can be prepared by homogenizing with Waring blendor under ice-cooling, an aliquot of sample tissue (2～10 gr.) added with a small amount of water for 2～3 minutes at a speed of about 10,000 r. p. m., diluting 5～10 times, and filtering through double-fold cotton gauze. This enzyme solution should be used within 10 minutes after its preparation.

The enzyme activity is determined by measuring the rate of fading of the blue dye after adding the enzyme solution to a mixture of the other components of the reaction system. The rate of decrease of color intensity of the dye is traced by measuring the time Δt required for the change of 0.1 degree of optical density after the addition of the enzyme at 20° C.

One unit of succinic dehydrogenase activity is defined as the activity capable of reducing the color intensity of the dye by 0.1 of optical density after 30 seconds in the initial stage of the reaction under the stated conditions.

魚体組織中のコハク酸脱水素酵素を測定した文献は極めて少く，その測定法もあまり検討されていない。かしコハク酸脱水素酵素（以下 Suc. DH と記す）は生体内の組織呼吸に関係する重要な酵素であるから，体内の酸化還元代謝系においても重要な役割をになつているものと考えられる。よつて先づ魚体組織中にまれている Suc. DH の活性度を測定する方法について検討した。生体組織中の Suc. DH を測定する方としては Warburg 検圧法によるか， 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) による比色法[1] がく用いられている。この他に赤血塩を還元して生ずる prussian blue を比色（440 mμ）する方法[2) 3)] とethylene blue の褪色度を比色（660 mμ）する方法[4] などがあるが今日ではあまり用いられていない。最，H. A. NEUFELD ら[5] によつて 2, 6-dichlorophenolindo-*o*-chlorophenol（以下 DPICP と記す）を用る比色法（660 mμ）が報告されている。これらの比色法のうちで methylene blue の酸化還元電位は E_0' 0.011 volt， TTC/TPF のそれは $E_0' = -0.08$ volt であつて， 酸素の酸化還元電位 $E_0' = 0.815$ voltよもはるかに低いために空気中の酸素の影響をうけて還元を妨げられる。これに対して DPICP の酸化還元

1957 年 8 月 6 日受理

電位は $E_0'=0.218$ volt で酸素のそれと同位にあつて，測定中酸素の影響をうけないから排気の必要がない。しかもその測定波長が 660 mμ であるから魚肉色素に影響されることも少い。このような点から考えて DPICP による比色法が最も適当と認め，これを魚体組織中に含まれる Suc. DH 活性度の測定に応用し，組織の homogenate について直接に酵素活性度を測定する方法として改変した。

実験と考察

I. 酵素液の調製

組織 2~10 g をとり少量の水を加えて Waring blendor にかけ，氷冷しながら約 10.000 r. p. m. で 2~3 分間 homogenize する。乳ビ液をメスシリンダーに洗いこみ水を加えて 5~10 倍量 (n=5, 10) とする。これを乾いた二重ガーゼで漉して氷冷し，調製後 10 分以内に測定に供する。

Suc. DH は本来組織の mitochondria に結合して存在する酵素であるから，これを完全な酵素溶液とするためには特殊な抽出処理を必要とし[5) 6) 7)]，酵素の失活はある程度まぬかれない。故に組織中に含まれる本来の酵素活性度を測定するためには，組織の homogenate そのものについて測定することが有利である。したがつて本法においてはすべて魚体組織の 5~20 % homogenate をそのまま酵素液として用いることとした。

homogenate 中の酵素活性度は酵素液の調製法によつて可なり著しい差異を生ずる。Fig. 1 は homogenize の程度による差，Table 1 は懸濁液の濾過，遠心分離などの処理による活性度低下を示す例であるが

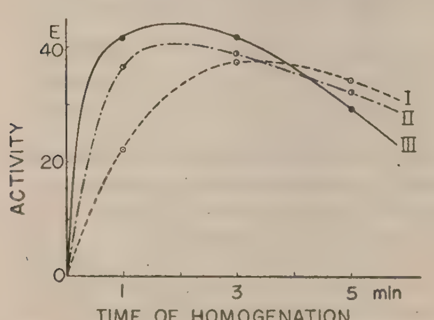


Fig. 1 Change in the activity of Suc. DH by the degree of homogenation.
(Sample : Dark muscle of sardine, 10 times of dilution)
Homogenation I … 6500 r. p. m., 1~5 min.
II … 9200 r. p. m., 〃
III … 13000 r. p. m., 〃

Table 1. Change in Suc. DH activity of homogenate by filtration or centrifugation
(Sample : 10% homogenate of dark muscle of sardine)

Dilution (n)	Treatment of homogenate	Turbidity	Enz. soln. (aml.)	Δt	E
10	Filter with gauze	+++	0.5	33	18.1
〃	Centrifuge ; 1500 r. p. m. ; 1 min.	++	〃	36	16.6
〃	〃 ; 〃 ; 3 min.	++	〃	40	15.0
〃	〃 ; 〃 ; 5 min.	+	〃	43	13.9
〃	Filter with filter paper	−	〃	140	4.2

このように著しい影響があるので，よい再現性を得るためには酵素液調製の条件を細部にわたつて規定しておく必要がある。実験の結果，上に示した調製条件が適当であると認めた。

II. 色素溶液

Na-2, 6-dichlorophenolindo-*o*-chlorophenol (Na-DPICP) 35 mg を 100 ml の水に溶解し 1 mM 溶液として氷室中に貯蔵する。使用に際して水で 10 倍に稀釈し 0.1 mM 溶液として使用する。添加量は反応液 10 ml 中に 2 ml が適当である。この色素は酸化還元電位が高く測定中酸素の影響をうけることがないから，反応系を無酸素状態に保つ必要がなく，測定に好都合である。

III. 測定法

測定の諸条件は別に検討して第II報に報告する予定であるが，ここでは一応適当と思われる条件に従つて測定法の記述をする。

Reaction mixture	0.1 M KH_2PO_4-Na_2HPO_4 (7:3) buffer soln.	(5.7-*a*)ml.
	0.1 M Na-succinate	2 ml.

0.1 M KCN	0.3 ml.	Reaction at 20°C
0.1 mM DPICP dye soln.	2 ml.	and pH 6.5～6.8,
Enzyme soln. (10% homogenate)	a ml.	660 mμ filter
Total volume of mixture	10 ml.	

Measure time in sec. (Δt) required for decrease of 0.1 degree in optical dencity.

光電比色計は東京光電式V型を用いた。

径 20 mm の同質の比色管数本に酵素液以外の反応液を順次に加え 21～22°C の定温器中に保つ。管内の液温が 20°C に達したならば管を 1 本づつ取出し光電計の光路に挿入する。 直ちに starter として酵素液 ml を加え，小攪拌棒で手速やく攪拌する。 攪拌と同時に指針は振れて吸光値を低下しはじめるから，指計が下りはじめたときの目盛 D_0 からストップウオッチをスタートし，それより吸光度 0.1 だけ低い目盛 $D_0-0.1$）を通過するまでに要する時間 Δt を $^1/_{10}$ 秒の精度で測定する。ここに測定される Δt は色素が還元脱色されて吸光度を低下する速さであるから，色素の還元速度に比例し，ある範囲内では加えた酵素液量 ml に反比例する。

なお反応系に加える酵素液量 a ml は測定される Δt の値が 30 sec. 内外（15～60 sec.）に求められるように加減して測定しないと誤差が著しくなる。従つて homogenate 中に含まれる酵素の強弱に従つて添加量を加減し， 酵素の最も強い血合肉では 0.1～0.5 ml， これに次ぐ肝臓では 0.2～0.6 ml， 腎臓では 0.4～.0 ml，鰓と普通肉では 0.5～2.0 ml の範囲内が一般に適当のようである。

homogenate を反応系に加えた場合，添加量が多くなるとその濁りのために吸光度の読みが 0.6 以上に高くなつて不正確になる。よつて測定に際してはスタートにおける吸光度の読みが $0.6>D_0>0.2$ になるようにする必要がある。但し反応系の濁りそのものによる影響は消却されて Δt の測定値には殆んどひびかないから，このような条件をえらべば測定誤差をおよそ 10% 以内に止めることができる。

Ⅳ. 酵素活性度の単位

所定の測定条件の下で， 吸光度を 0.1 だけ低下するに 30 sec. を要する酵素力を Suc. DH の 1 単位と規定する。従つて用いた組織 1 g に対応する Suc. DH の活性度 E は次式で与えられる。

$$E=\frac{30}{\Delta t}\times\frac{1}{a}\times n$$

a……ml. of enzyme soln. added to the reaction mixture

n……Fold of homogenate for the tissue

Δt……Measured time in sec. required for decrease of 0.1 in optical density

同一の homogenate について添加量 a ml を変えて測定した Δt の測定値のうちからなるべく20～40sec. の範囲内にある測定値をえらんで E を計算しその平均値を求める。 このようにして求められるEの値は多くの動物組織においておよそ 1～100 の範囲内にある値として求められる。

Ⅴ. 酵素液の添加量

所定の条件の下に測定した吸光度の時間的変化をみると Fig. 2 に示す例のように，反応初期の 1 分以内においては吸光度変化（$-\Delta D$）と時間（t sec.）との間にほぼ直線関係が成立すると認めてよい。従つて測定時間を 60 秒以内とすれば，その間における反応速度はほぼ一定であつて，測定中の酵素の失活や基質および色素の濃度変化などによる影響は無視してよい。

同一酵素液の添加量を異にした場合の測定値 Δt と酵素液量との間にはある範囲内でほぼ比例関係があつて，Fig. 3 に示すように， Δt の逆数と酵素液量 a ml との間にほぼ直線関係が成立する。故に酵素量と組の速度との間に逆比例関係が成立するものと認めて酵素活性度の測定に応用することができる。

しかし実際の測定に当つてはこのような比例関係が成立し難い場合や測定値の変動が甚だしい場合などがあつて一様にはゆかないので，魚種および組織の種類に応じて酵素活性度の強弱を推定し，測定誤差をできるだけ少なくすることが望ましい。そのためには同一酵素液について液量を変えた数回の測定を行い，その結果から $30/\Delta t$ の値がほぼ直線上にならぶような Δt の測定値から E を求めるとよい。この検定法を行つて測定値（Δt）を整理すれば正確に酵素活性度 E を求めることができる。

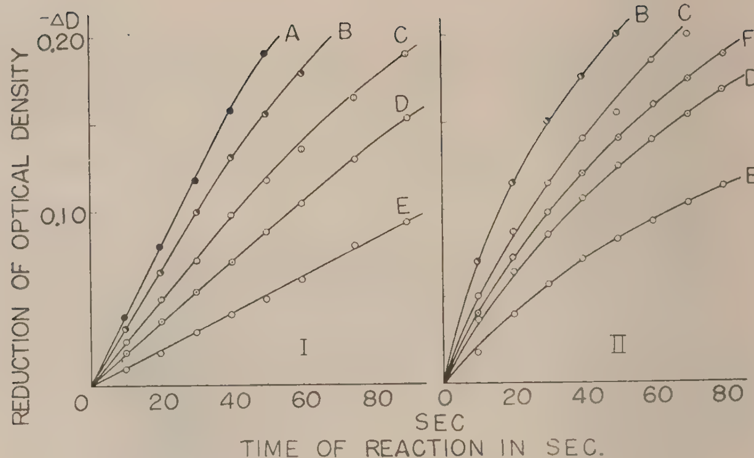


Fig. 2 Decrease of the optical density with reaction time.
Samples : I ……dark muscle of carp, II ……liver of horse-mackerel.
Introduced amounts of the homogenate in 10 ml. of the reaction system:
A…1.0 ml., B…0.8 ml., C…0.6 ml., D…0.4 ml., E…0.2 ml., F…0.5 ml.

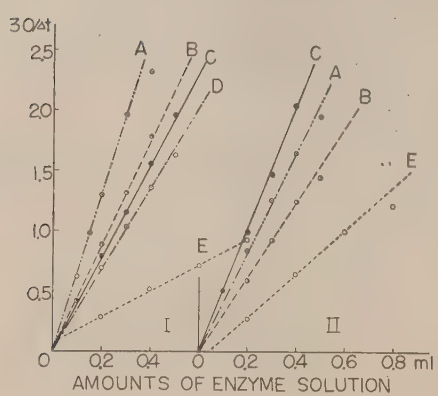


Fig. 3 Relations between the reciprocal of Δt and relative amount of enzyme solution. Enzyme solution were employed as 10% homogenized suspension.
I ……dark muscle II ……liver
A……horse-mackerel (Maaji)
B……mackerel (Honsaba)
C……flying fish (Tobiuwo)
D……spanish mackerel (Sawara)
E……carp (Koi)

要　　　　約

2, 6-dichlorophenolindo-*o*-chlorophenol (DPICP) を用いる Suc. DH の比色測定法を改良し，組織の homogenate について直接に酵素活性度を測定する方法として応用した。この方法によつて測定した色素の褪色速度から組織 1 g に対応する Suc. DH 活性度 E を求めた。

終りに本研究費の一部は文部省綜合科学研究費「血合肉の生化学的研究」によつた。なお原稿の校閲をしていただいた九州大学富山哲夫教授に対して謝意を表する。

文　　　　献

1) Kun, E. and Abood, L. G. : *Science*, **109**, 144 (1949).
2) Slater, E. C. and Bonner, W. D. : *Biochem J.*, **52**, 185 (1952).
3) Kuff, E. L. and Schneider, W. C. : *J. Biol. Chem.*, **206**, 677 (1954).
4) Lardy, H. A., et. al. : *"Respiratory Enzymes"*, 115 (1950).
5) Neufeld, H. A., Scott, C. R. and Stotz, E. : *J. Biol. Chem.*, **210**, 869 (1954).
6) Hogeboom, G. H. : *J. Biol. Chem.*, **162**, 739 (1946).
7) Morton, R. K. : *Nature*, **166**, 1092 (1950).

魚体のコハク酸脱水素酵素に関する研究—II. 2, 6-Dichlorophenolindo-*o*-chlorophenol による比色測定法における測定条件の吟味

福　田　博　業
（宮崎大学農学部水産化学教室）

Studies on the Succinic Dehydrogenase of Fish——II. Conditions for the Determination of Succinic Dehydrogenase Activity in Homogenate of Fish-Tissues

Hironari FUKUDA

1. The optimum concentration of the substrate; namely, 2 ml. of 0.1 M succinate were included in 10 ml. of the reaction mixture.

2. The optimum concentration of KCN for the inhibition of cytochrome system were found 2～5 mM; namely 0.3 ml. of 0.1 M KCN per 10 ml. of the reaction mixture.

3. The optimum pH was found 6.7±0.1 for various tissues of several kinds of fish. A 0.1 M phosphate buffer mixture of KH_2PO_4 and Na_2HPO_4 (7 : 3) were employed. The concentration of phosphate buffer of the reaction system was appropriate at 0.1 to 0.2 Mol. When 5 ml. of the above buffer solution were included in 10 ml. reaction mixture, the resultant pH was usually found 6.6～6.8.

4. The activity of the enzyme increased with rise of reaction temperature up to 50～55°C. Since Q_{10} above 40 °C was higher than at lower temperature, the determination of the activity could be more accurately determined in a lower temperature range. Taking into account the effect due to the temperature difference between the laboratory and the reaction mixture, it was finally decided to carry out the determination at 20°C.

5. The enzymatic activity of homogenized tissue suspension was observed to decrease with time of standing. However, the decrease within a 10 minutes interval was very slight.

前報[1]に報告したコハク酸脱水素酵素（以下 Suc. DH と記す）の活性度測定法における測定の諸条件を検討した結果について報告する。前報に報告した本測定法の記述は一応適当と思われる条件を仮定して述べたから，ここにそれらの測定条件を吟味して最も適当と認められる条件を規定する。酵素活性度に影響する条件として，温度，pH，基質などの他に，共存する物質による阻害作用あるいは賦活作用，酵素自体の性などが考えられる。以下これらの諸条件について検討した結果をのべ，測定法として確定する。

実　験　と　考　察

I. 基質濃度の影響。

Suc. DH の基質であるコハク酸は魚体組織中に多少含まれているから，これを加えなくてもある程度の酵素作用をあらわす。したがつて反応の starter として基質を用いることは不適当であつて，homogenate の添加を starter とすべきである。

反応系に加える基質の量は，Fig. 1 に示した実験結果から，反応液 10 ml に対して 0.1 M Na-succinate ～2 ml が適当と認められる。すなわち反応系における基質の初濃度は 0.01～0.02 M が適当であつて，それ以上に基質濃度が高いとかえつて作用力を低下する傾向がある。

1957 年 8 月 6 日受理

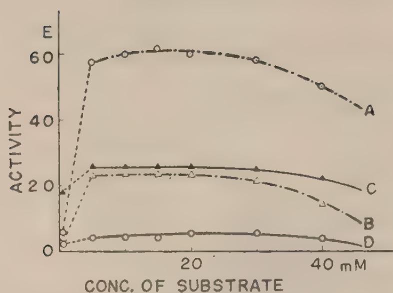


Fig. 1 Change in the Suc. DH activity with the concentration of substrate. Varying amounts of 0.1 M Na-succinate were included in 10 ml. of reaction system.
Samples ;
A……dark muscle of sardine
B……dark muscle of mackerel
C……liver of mackerel
D……ordinary muscle of sardine

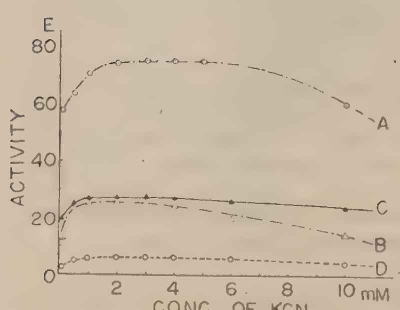


Fig. 2 Effects of concentration of KCN on the Suc. DH activity.
0～1.0 ml. of 0.1 M KCN were included in the 10 ml. of reaction mixture.
Samples :
A……dark muscle of sardine
B……dark muscle of mackerel
C……liver of mackerel
D……ordinary muscle of sardine

Ⅱ. KCN 添加の影響。

Suc. DH の水素受容体は主として cytochrome c とされて
る。故にあらかじめ反応系に KCN を加えて cytochrome 系
作用を抑えておく必要がある。cytochrome c の酸化還元電
は E'_0 =0.262 volt, 色素 2,6-dichlorophenolindo-*o*-chlor
henol の酸化還元電位は E'_0 =0.218 volt であるから，あら
じめ KCN を加えて cytochrome 系を阻害しておけば色素の
元脱色が円滑に行われる。実験の結果は Fig. 2 に示すように
反応液 10 ml に対して 0.1 M KCN 0.3 ml (0.2～0.4 m
の添加が適当であつた。すなわち反応系における KCN 濃度
0.003 M (M/500～M/250) が適当であつて，この程度の KC
濃度ならば Suc. DH に対する阻害は認められない。それ以
に KCN 濃度が高くなると Suc. DH に対する阻害作用が次
に現われてくる。

Ⅲ. 色素溶液の添加量。

用いる色素溶液の濃度は 0.1 mM が適当であるから，
2,6-dichlorophenolindo-*o*-chlorophenol (以下 DPICP と記
35 mg を 100 ml の水に溶し，使用に際して 10 倍に稀釈
る。光電光度計による吸光度測定に当つては指針の読みの精
をよくするために，吸光度の値が 0.6 以下であることが望
しい。また測定の始点における吸光値 Do は測定の終点にお
る吸光値 $D_{\Delta t}$ よりも 0.1 以上高く，しかも $D_{\Delta t}$ は Do の
減値よりも高い値であることが必要である。このような点
から測定の始点における Do の値が 0.6～0.2 の間にある
うな条件とするためには，反応液 10 ml に対して 0.1 mM
PICP 2 ml の添加が適当である。

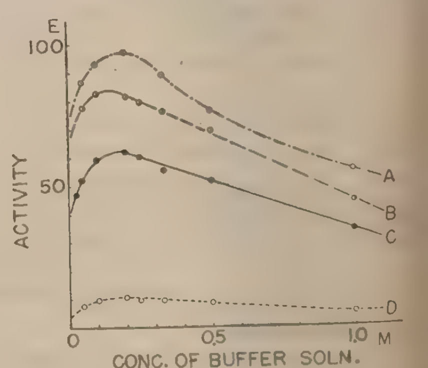


Fig. 3 Effects of the concentration of phosphate buffer on the Suc. DH activity. 5 ml. of the buffer solution are included in 10 ml. of reaction system.
Sample : A……dark muscle of horse-mackerel, B…… dark muscle of sardine. C……dark muscle of mackerel, D…… liver of Therapon sp.

IV. 緩衝液の濃度による影響。

酵素の活性度が緩衝液の種類および濃度によつて影響をうける例はしばしば認められるところである。

Suc. DH の活性度測定には一般に燐酸塩緩衝液が

用いられているが，その濃度による影響をみると Fig. 3 の実験結果に示すように，明らかな影響がみられる。反応液中における燐酸塩濃度は 0.15～0.2M が適当であるから，反応液 10 ml 中に加える緩衝液量を 5ml とすれば，用いる緩衝液の濃度は 0.3～0.4 M が適当である。しかし実用上は 0.2 M 緩衝液を用いてもよいであろう。

V. pH の影響。

古い文献によると Suc. DH の opt. pH は多く pH 8～9 の高い値を示していて，その活性度測定も多くは pH 7～8 の塩基性において行なわれている。[2] しかし著者が多数の魚体組織や牛肝臓などについて本法で測定した結果はいずれも opt. pH 6.6～6.8 の範囲内にあつた（Fig. 4）。測定に当つて反応系に加える KCN, Na-succinate などの塩基性塩や homogenate などの影響によつて混和後の pH は可なり著しく変動するからあらかじめこの点の考慮を払つておく必要がある。従来の測定法ではこの点の注意がなされていない。著者の実験によれば，KH_2PO_4 : Na_2HPO_4 = 7 : 3（約 pH 6.3）の緩衝液を用いればその終末 pH を 6.7 付近に調整することができる。

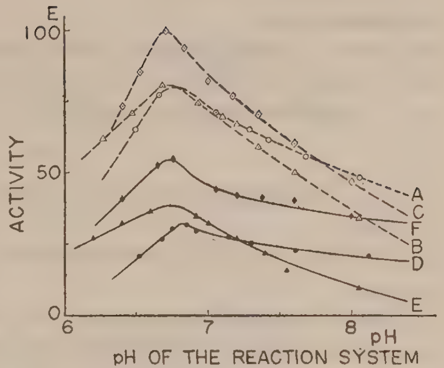


Fig. 4 Effects of pH on the Suc. DH activity. 5 ml. of M/10 KH_2PO_4-Na_2HPO_4 buffer solution are included in 10 ml. of reaction system, and resulting pH are shown in the figure.
Samples : A……dark muscle of sardine
B……dark muscle of horse-mackerel
C……dark muscle of bonito
D……liver of sardine
E……liver of horse-mackerel
F……liver of bonito

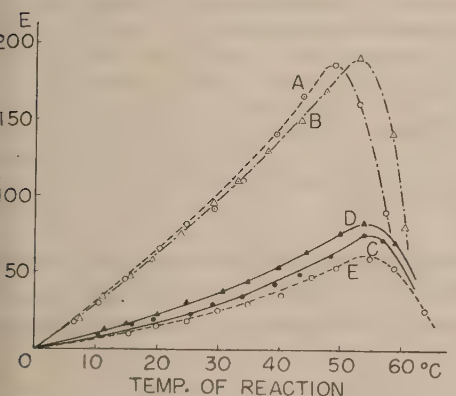


Fig. 5 Effects of reaction temperature for the Suc. DH activity.
Reaction pH……6.6～6.8, Enzyme soln. …10% homogenate of the tissues.
Sample : A……dark muscle of sardine
B……dark muscle of horse-mackerel
C……liver of sardine
D……liver of mackerel
E……dark muscle of carp

VI. 温度の影響。

従来報告されている測定法においては温度の規定が極めてまちまちであつて，甚しきに到つては温度規定の不明確なものさえある。Fig. 5 に示した著者の実験結果によれば，魚体組織中の Suc. DH 活性度の温度変化は魚種によつて多少の差異はあるけれども，大体において 50～55°C までは温度の上昇とともに次第に活性度を増加する。50～55°C を最高としてそれを越えると急激に作用力を低下し，60～65°C に至つて殆んど完全に失活する。この熱失活が起るまでの温度上昇に伴う活性度増加の関係は組織の種別によつて異るが，一般に比較的に低い温度（約30°C 以下）では変化が緩やかであるが，温度が 40°C 以上に高くなると変化が急になる例が多い。この傾向は特に哺乳動物において著しい[4]。

酵素の活性度を測定するにはなるべく温度による影響の少ない条件が望ましい。そのためにはなるべく温度係数 Q_{10} の値が一定した温度条件をえらぶべきである。これらの点を考慮に入れて本法における測定温度を 20°C と規定する。なお測定中の温度変化は常温で 1 分以内ならば無視できる。Neufeld[2] は 28°C で測定している。

VII. Ca イオンの影響。

Suc. DH に対して $Ca^{\cdot\cdot}$ および $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ が活性度を増加するという報告[3] があるが，著者の実験結果ではそ

のような傾向は認められなかつた。

Ⅷ. 酵素液の安定度。

homogenize した酵素液を放置すると次第に酵素の活性度を低下するのが普通である。その程度は試料の種別によつて異るが，魚体組織の homogenate では最初の 10～20 分間における活性度低下はあまり著しくないので，調製後 10 分以内に測定に供すればよい。

総　　　　括

1. 反応系の基質濃度は 0.01～0.02M が適当であるから，反応液 10ml 中に 0.1 M 基質溶液 1～2ml を加える。

2. 反応系の KCN 濃度は 2～4 mM が適当であるから，反応液 10 ml 中に 0.1 M KCN 溶液0.3ml を加える。

3. DPICP 色素溶液の添加量は反応液 10 ml に対して 0.1 mM 溶液 2 ml が適当である。反応の始点における吸光値が 0.6～0.2 の間にあるようにするとよい。

4. 反応系に加えた燐酸塩緩衝液の濃度は 0.15～0.2 M が適当であるから，反応液 10 ml 中に 0.3～0.4 M 緩衝液 5 ml を加えるとよい。

5. 魚体組織中の Suc. DH は opt. pH 6.7±0.1 と測定された。よつて KH_2PO_4-Na_2HPO_4 (7 : 3) 緩衝液約を加えて反応液の終末 pH が約 6.7 となるようにする。

6. Suc. DH の活性度は約 50°C までは温度の上昇とともに増加するから，活性度の測定温度を厳密に規定する必要がある。ここでは常温に近い 20°C と規定する。

7. 酵素活性度の測定は homogenate 調製後 10 分以内に測定に供する必要がある。

以上吟味した諸条件を総括し，実施上の便利のために幾分改変し，第 1 報[1] において一応仮定した測定条件を次のように定める。

〔Reaction mixture for the estimation of Suc. DH activity in the homogenate of fish-tissues.〕

0.2 M KH_2PO_4-Na_2HPO_4 (7 : 3) phosphate butter (5.7−a) ml.
　(final concn. of phosphate 0.1M; final pH 6.7±0.1)
0.1 M Na-succinate　2 ml. (final concn. 0.02 M)
0.1 M KCN　　0.3 ml. (final concn. 0.003 M)
0.1 mM DPICP dye soln. 2 ml.
Enzyme soln. (10 % homogenate)　a ml. (as starter)
Total volume of reaction mixture　10. ml.

Reaction temperature of mixture 20±0.5°C; pH 6.7±0.1; λ=660 mμ filter; a=0.2～2.0 ml.; optical density at start Do=0.6～0.2; time of decrease of 0.1 in optical density $\triangle t$=30±10 sec.

終りに本研究費の一部は文部省総合科学研究費『血合肉の生化学的研究』によつた。なお原稿の校閲をしていただいた九州大学富山哲夫教授に感謝する。

文　　　　献

1. 福田博業 : 本誌, **23**, 547 (1958).
2. Neufeld, H. A., Scott, C. R., and Stotz, E. : *J. Biol. Chem.*, **210**, 869 (1954).
3. Axelrod, A. E., Swingle, K. F., and Elvehjem, C. A. : *J. Biol. Chem.*, **140**, 931 (1941).
4. 福田博業 : 未発表 (続報として本誌に発表).

ニンヒドリンによるアミノ酸の定量法
YEMM 及び COCKING の方法に関する二三の吟味

須山三千三・鴻巣章二
（東京水産大学）・（東京大学農学部）

The Colorimetric Ninhydrin Method for the Determination of Amino Acids
Some Examinations for YEMM and COCKING's Method

Michizo SUYAMA and Shôji KÔNOSU

The colorimetric ninhydrin method for the determination of amino acids, devised by YEMM and COCKING, was adopted after some examinations, and the color yields obtained for amino acids and related compounds are listed in Table 2.

In the original method, ninhydrin and KCN are added separately or as a mixture to an amino acid solution (pH 5).

As shown in Figs. 3 and 4, however, the method of separate addition of the reagents appears unable to give the reproducible results, unless standing time before heating is fixed. Maximum color is obtained by heating immediately after the addition of the reagents ; figures shown in column A of Table 2 are obtained at such optimum conditions.

On the other hand, in the application of the reagent mixture, standing time before heating has no effect upon the color intensities (Fig. 7). The blank values, however, are not independent on the aging of the reagent mixture (Table 1), though the original authors state that the mixed reagent is stable for at least one week if kept in a stoppered flask at room temperature. Therefore, it is desired to prepare the reagent in the day before use. Figures in column B of Table 2 are obtained with such a desire.

近年イオン交換樹脂によるアミノ酸の分離定量法が MOORE 等[1,2] によつて確立され，すべてのアミノ酸が比較的精度よく定量されるようになつた。その骨子はイオン交換樹脂カラムを通して分離されるアミノ酸をフラクション・コレクターによつて分取し，これらをニンヒドリンと反応せしめて生ずる diketohydrindylidenediketohydrindamine（DYDA）を比色定量することに基づくが，その比色法については SMITH 等[3]，TROLL 等[4] 及び MOORE 等[5] が夫々改良法を発表している。

然しながらニンヒドリンは比較的高価であり，且比較的多量を要するので，その使用量を節減した方法の提出が望まれている。TROLL 等[4]，MOORE 等[5] の改良法も当初の方法に比較すればかなり使用量の節減に留意されてはいるが，YEMM 及び COCKING [7,8] の提案はニンヒドリンの使用量を凡そ半減しており，方法自体も簡便で，充分考慮に値するものがあると考えられる。

ところで YEMM 及び COCKING 等はアミノ酸溶液に対してニンヒドリン液及び還元剤としてのシヤン化カリ液を別個に加える方法及び両者の混合液を加える方法の二方法を報告し，何れの場合も同一結果を生むものとしている。然し，著者等の実験によれば原報通り実施しても再現性のある結果が得られなかつた。そこで種々検討した結果，前者に於てはアミノ酸にニンヒドリン液及びシヤン化カリ液を加えてから沸騰水中で加熱を行うまでの放置時間がかなり呈色に影響し，殊にブランク値は放置時間の延長に伴つて増大すること，

1957 年 8 月 19 日受理

後者に於ては試薬混合後の時間の経過と共にブランク値が変動することを知り，再現性が乏しいのはこれらの時間の規定がないためであることが判つた。

フラクション・コレクター等で分取した多数のアミノ酸試料をニンヒドリンで発色定量する場合，すべての試料について夫々のブランクを置いて定量することは困難であるため，実際上はいくつかのブランク値の平均値を測定値から差引いているのであるが[6)]，そのブランク値は出来るだけ一定で且低いものであることが望ましいのは言うまでもない。然るに前記のように放置時間を規定しないで測定を行うと，ブランク値はかなり大きく変動するため，その平均値を一律に測定値から減ずることは大きな実験誤差の原因となりやすい。著者等はかかる欠点を除くため後述のようにニンヒドリン液及びシヤン化カリ液を別個に加える方法に於ては試薬添加後直ちに加熱すること，又両試薬の混合液を加える方法に於ては使用の前日新しく調製したものを使用し，試薬添加後は約 40 分以内に加熱に移ることを推奨する。即ちこのようにすればブランク値は常に低く得られると同時に測定結果の再現性は極めて良くなり，アミノ酸の比色定量に適したものとなる。

ここにその概略と，アミノ酸及び数種窒素化合物のニンヒドリンによる呈色比の測定結果とを報告する次第である。

実験及び結果

試 薬 使用したアミノ酸類及び試薬は次の通りである。

アミノ酸及びその他の窒素化合物 ： 第2表に掲げたアミノ酸及びその他の窒素化合物はいづれも General Biochemicals, INC. 製品を使用した。但しアスパラギン酸及び尿素は国産品を，アンモニアは Merck 製硫酸アンモニウムを用いた。

ニンヒドリン ： 市販ニンヒドリンは水に溶解するとかなり強い黄色を呈する。これを骨炭で吸着除去し再結して使用した。

メチルセロソルブ ： 市販品を再溜精製し，予め過酸化物を含まないことを確かめてから使用した。

シヤン化カリ ： 市販品（G.R.）

エチルアルコール ： 再溜品

クエン酸塩緩衝液 ： Moore 等[1)] の調製法により調製した。

アミノ酸の発色方法 0.1 M クエン酸塩緩衝液（pH 5.00）に溶解した 0.05～5 mM アミノ酸液 1cc. を試験管にとり，0.2 M クエン酸塩緩衝液（pH 5.00）0.5 cc. を加える。次いでメチルセロソルブに溶解したニンヒドリン液（5%, W/V）0.2 cc. と，同じくメチルセロソルブに溶解したシヤン化カリ液（0.2 mM, 10 mM KCN 水溶液をメチルセロソルブで 50 倍に稀釈する）1 cc. を順次注加するか，又は両者を此の割合で混合した発色試薬（調製後1夜放置したもの）1.2 cc. を加へ，充分混合した後沸騰水中で加熱する。加熱中試験管上部はガラス球で覆い，蒸発による液量の減少を防ぐ。加熱終了後流水中で5分間冷却し，60 %エタノールで適宜稀釈してベックマン分光々度計で吸光値を測定する（波長 570 mμ）。

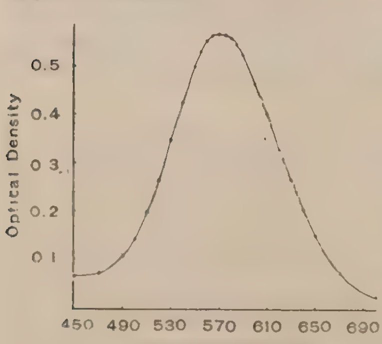


Fig. 1. Absorption spectrum of violet color obtained by the reaction of ninhydrin with leucine.

DYDA 吸収曲線 単離された DYDA の最大吸収帯が 570 mμ にあり，アミノ酸のニンヒドリンによる呈色物質の吸収帯と一致することは例えば Troll 等[4)] の研究で明らかであるが，本実験に於ては還元剤や溶剤等が異るため一応その影響を検討しておく必要があると思われる。

約 0.3 mM ロイシンを上述の方法に従つて発色させ 60 %エタノールで約6倍に稀釈して得た DYDA 液の可視部吸収曲線は第1図の通りである。これによれば本法に於ても最大吸収帯は 567～573 mμ にあることが明らかで，以後この波長 570 mμ で測定を実施することにした。

ニンヒドリン液及びシヤン化カリ液を別個に加える場合の検討

1. 加熱時間 アミノ酸液に試薬を加え，沸騰水中で加熱

して発色させる場合の加熱時間の影響を検討した。約 0.1 mM のロイシン液 1 cc. 宛を数本の試験管にとり，緩衝液，ニンヒドリン液，シヤン化カリ液を順次注加して 5~25 分間加熱し，60 %エタノール 10 cc. を添加して稀釈した後吸光値を測定した。アミノ酸液の代りに緩衝液を用いた所謂ブランクも同様に処理した。又シヤン化カリ液添加後加熱までの放置時間はすべて 2 分間に限定した。その結果は第 2 図の通りであつて，発色を最大にするためには少くも 15 分間以上加熱することが必要である。著者等はこの結果から試薬を順次加える場合に於ては常に 20 分間加熱することにしている。

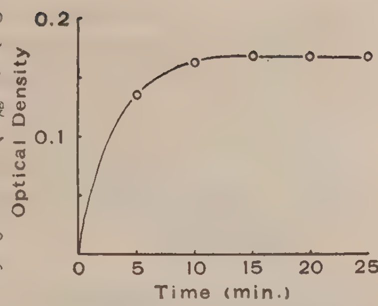


Fig. 2. Effect of heating time on the color development of leucine with ninhydrin at 100°C.

2. 試薬添加後加熱するまでの放置時間 前記と同じロイシン液に夫々試薬を加え，直ちに加熱するか又は室温に 1~40 分間放置した後 20 分間加熱して発色させ，60 %エタノール 10 cc. を加えて稀釈した後吸光値を測定し，これより夫々のブランク値を差引いて放置時間と呈色度とを比較検討した。その結果は第 3 図に示す通りであつて，加熱前の放置時間が延長されるに従つて呈色度はやや低下することが明らかである。測定値そのものはブランクも本試験も共に放置時間の延長に伴つて吸光値は増大しているが，図に示された低下はアミノ酸呈色値の増大よりもブランク値の増大の方が漸次大きくなるために生じたものである。それ故常に同一結果を得るためには放置時間を一定することが必要となつてくる。

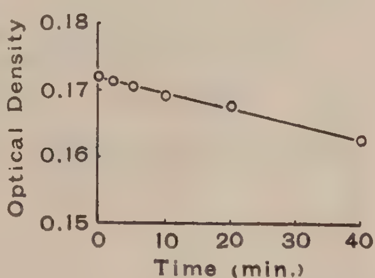


Fig. 3. Effect of standing time from the addition of the reagents to heating on their color intensity. Ninhydrin and KCN were added separately to the leucine solution.

次いでこの影響を更に明瞭に知る目的で以下に示すような実験を行つた。すなわち試験管に水 1 cc. をとり，緩衝液，試薬等を加えてから第 4 図脚註に示すような放置時間及び加熱時間の異る 4 種の処理を行い，可視部吸収曲線を求めて同図に示す結果を得たがこれによれば試薬を添加した後そのまゝ放置しておくと (Sample A) 混合液は 490 mμ に最大吸収帯をもつ橙赤色を呈するようになり，加熱によりその色調は強化されるが (Sample D) 試薬添加後直ちに加熱を施したもの

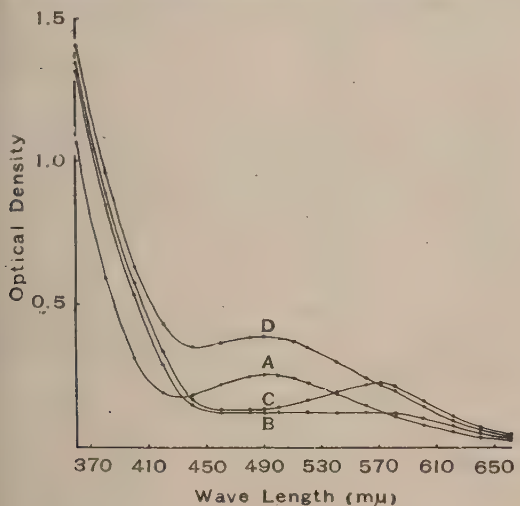


Fig. 4. Absorption spectra of the reaction mixtures varied in time of cold-leaving and/or heat treatment.

Distilled water	1.0 cc.
0.2 M citrate buffer	1.0
5 % ninhydrin	0.2
0.2 mM KCN	1.0

Sample No.	Time spent in cold-leaving	Time of heating	Addition of the leucine
	min.	min.	
A	20	0	—
B	0	20	—
C	0	20	1/3 M. 1 drop
D	20	20	—

(Sample B) は 490 mμ の吸収が極めて弱く，この点はアミノ酸が存在する場合 (Sample C) も何等変らないことを知り得る。Sample D は所謂ブランクであるが，加熱前に長時間放置しておくと DYDA の測定を行う 570 mμ に於てもかなりの吸光値をもつことが明らかである。

従つてこの結果から，出来るだけ低いブランク値を得るためには試薬添加後速やかに加熱することが必要である。又そのように実施することによつて発色も僅かながら鋭敏で，且プロリンやハイドロオキシプロリンの測定を行う 440 mμ 附近に於ける吸光値も低いと云う利点がある。著者等は放置時間の規定についても考慮したが，操作上の難易を検討した上で試薬添加後直ちに加熱する方法をとることにした。

3. DYDA 液の褪色 前記の方法に従つてロイシンを発色させ，これを室温に放置した場合の吸光値の変化をみた結果は第5図の通りである。これによると本法による DYDA 液の色調は少くも 90 分間安定でその後徐々に褪色することが判る。図中ブランク値の変化も掲げたが，この場合は 120 分に至るも何等変化していない。従つて加熱発色後 90 分以内に比色すれば充分なことが判る。

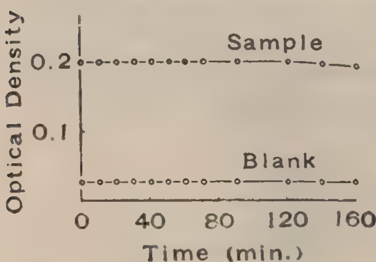


Fig. 5. Stability of the developed color at room temperature.

4. 発色限界濃度 Yemm 及び Cocking[7,8] はアミノ酸試料液 1 cc. に対し 5% (W/V) ニンヒドリン液 0.2 cc. を添加すべきことを述べている。α-アミノ酸1分子とニンヒドリン 2 分子とより DYDA 1 分子が生ずることから計算すると，使用ニンヒドリン量は凡そ 28 mM のアミノ酸と反応しうることとなる。然しアミノ酸から定量的に DYDA を作るためには過剰のニンヒドリンが必要であるのは言うまでもないことであつて，5%ニンヒドリン 0.2 cc. を以て定量しうるアミノ酸量は 28 mM よりかなり下廻ることが推定される。

今最高 30 mM までの各種濃度のロイシン溶液 1 cc. を該ニンヒドリン量を以て発色させ吸光値を測定すると第6図のようになる。すなわち本法で定量しうる濃度は凡そ 10 mM 近辺までである。唯アミノ酸濃度が 5 mM 以上になると反応液量下では DYDA の結晶が生成するようになる。然し DYDA は 60 %エタノールに溶解するから，そのまゝ 60 %エタノールに溶解して定量を続けることができ，第6図に示した値もそのようにして得たものである。

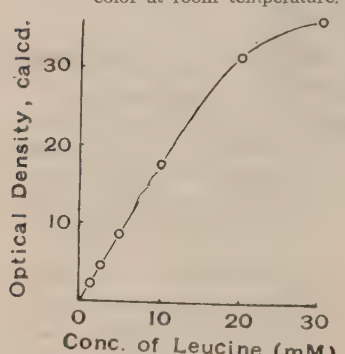


Fig. 6. Relation between the concentration of leucine and the color development.

ニンヒドリン液及びシヤン化カリ液の混合液を添加する場合の検討

5. 混合試薬の安定度 Yemm 及び Cocking[8] も述べている如くニンヒドリン試薬にシヤン化カリ液を添加すると数秒のうちに混合液は桃赤色を呈し，次第に褪色して遂には淡黄色になることが認められるが，低いブランク値を得るためには一夜放置しておくことが望ましい。この混合液は一週間は安定であると言われているが[8]，然し検討したところではブランク値は漸次変化することが明らかである。すなわち試薬混合液について調製後 1 日から 7 日までブランク値を測定すると第1表に示したように，570 mμ に於ける吸光値は時間がたつにつれて漸増し，440 mμ に於ける吸光値は漸減している。従つて試薬は常

Table 1. Change of blank value through aging of the reagent mixture (ninhydrin+KCN) after its preparation.

Time elapsed after the preparation	Wave length mμ	
	570	440
day		
1	0.038	0.042
2	0.056	0.036
3	0.062	0.030
4	0.068	0.028
7	0.074	0.031

に実験の前日調製したものを使用するようにした方がブランク値が低く，微量のアミノ酸を分析する上に好都合である。

6. 試薬添加後加熱までの放置時間 前記の実験2と同じ目的で試薬添加後加熱に移るまでの放置時間が呈色に与える影響を検討したところ第7図に示す結果が得られた。これによれば 0～40 分の間では放置は呈色に対して殆んど影響をもたないことが明らかである。但し，アミノ酸液に試薬を添加し混合せずにそのまゝ静置しておくと，アミノ酸液と試薬との界面が桃赤色を呈しブランク値を大きくする故，これを防止するために試薬を添加し終ったならばその都度振盪し混合しておく必要がある。このようにすれば反応液は 20 分以上放置しても強い桃赤色を帯びることはなく，加熱後の呈色値が振れることは殆んど無い。

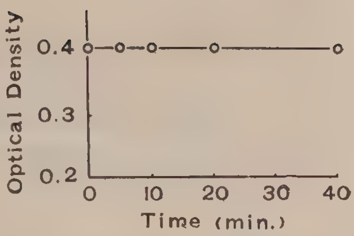


Fig. 7. Effect of standing time from the addition of the reagent mixture to heating on their color intensity.

7. 加熱時間 反応液を沸騰水中で 5～30 分間加熱して呈色度を測定した結果では 10 分間の加熱で殆んど最大の発色が得られるようである。著者等は念のため 15 分間の

Table 2. Color yields from amino acids and related compounds on molar basis relative to leucine.

Compound	Suyama & Kônosu A*	Suyama & Kônosu B**	Yemm & Cocking[8]	Moore & Stein[6]	Moore & Stein[5]
Alanine	1.00	1.01	1.00	1.01	0.97
Arginine	0.99	0.99	1.00	1.00	1.01
Aspartic acid	0.96	0.97	1.00	0.88	0.94
Cysteine	0.22	0.12	—	0.15	—
Cystine	0.92	1.02	1.00	1.08	1.10
Glutamic acid	1.03	1.02	1.00	1.05	0.99
Glycine	1.01	0.99	1.00	1.01	0.95
Histidine	1.01	1.00	1.00	1.04	1.02
Hydroxyproline (440 mμ)	0.20	0.20	—	—	0.077
Isoleucine	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Leucine	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Lysine	1.06	1.07	1.08	1.12	1.10
Methionine	0.95	1.00	1.00	1.00	1.02
Phenylalanine	0.96	0.90	0.89	0.88	1.00
Proline (440 mμ)	0.32	0.27	—	—	0.225
Serine	0.94	0.95	0.99	0.94	0.95
Threonine	0.92	0.93	1.00	0.92	0.94
Tryptophan	0.90	0.83	0.83	0.72	0.94
Tyrosine	0.94	0.87	0.89	0.88	1.00
Valine	0.98	0.99	0.99	1.02	0.97
Asparagine	0.40	0.40	0.45	0.94	0.95
Glutamine	0.94	0.89	1.00	0.99	0.99
α-amino-n-butylic acid	0.97	0.99	—	—	1.02
γ-amino-butylic acid	—	0.95	—	—	1.01
Cysteic acid	1.00	1.00	0.99	—	0.99
Ammonia	0.52	0.40	0.33	0.98	0.97
Carnosine	0.95	0.72	—	—	0.93
Creatine	0.016	0.00	—	0.03	—
Creatinine	0.011	0.00	—	0.03	0.027
Taurine	0.70	0.66	—	0.97	0.88
Urea	0.021	0.015	—	0.03	0.0314
Glutathione	—	0.73	—	0.76	0.93

* Ninhydrin and KCN were added separately.
** Mixture of ninhydrin and KCN was added.
The solutions were heated at 100°C for 20 min. (A) or 15 min. (B) and cooled in running tap water for 5 min. After cooling 10 ml. of 60 % Ethanol were added and color yields were measured by Beckman spectrophotometer at 570 mμ.

加熱を行つている。

8. **DYDA 液の褪色**　この方法による時は DYDA 液は約1時間安定である。

ロイシンに対する同モルアミノ酸及び数種窒素化合物の呈色比

Cocking 等の方法に準拠し，加熱前の放置時間又は試薬の調製等著者等の得た知見を加味して各種アミノ酸及びその他の数種の窒素化合物を発色させ，同一濃度のロイシンの呈色度との比（呈色比）を求めた結果は第2表の通りである。これらの結果は同一試料について夫々三回測定を行つた値の平均値から算出したものであるが，還元剤の添加時期の相違によつてシステイン等二三のアミノ酸の呈色比は相違があるようである。

以上を総括して本法はフラクション・コレクター等によつて分取された各アミノ酸の定量に適したものであると言えよう。然して検討した二通りの測定法は何れも多少の利点をもつているが，多量の試料を分析する上に於てはどちらかと言えば混合試薬を添加する方が操作が簡便であると考えられる。

本研究を行うに当り終始御懇篤なる御指導を賜わつた東京大学教授森高次郎先生に深甚なる感謝の意を表する。尚研究費の一部は文部省試験研究補助金によつて支弁したことを附記する。

文　　献

1) S. Moore and W.H. Stein : J. Biol. Chem., **192**, 663 (1951)
2) S. Moore and W.H. Stein : Ibid., **221**, 893 (1954)
3) A. M. Smith and A.H. Agiza : Analyst, **76**, 623 (1951)
4) W. Troll and R.K. Cannan ; J. Biol. Chem., **200**, 803 (1954)
5) S. Moore and W.H. Stein ; Ibid., **211**, 907 (1954)
6) S. Moore and W.H. Stein : Ibid., **176**, 367 (1948)
7) E.C. Cocking and E.W. Yemm : Biochem. J., **58**, xii (1954)
8) E.W. Yemm and E.C. Cocking : Analyst, **80**, 209 (1955)

水産動物筋肉のエキス成分—I.

スルメイカ筋肉エキス中のアミノ酸，トリメチルアミン及びトリメチルアミンオキサイドについて*

鴻巣章二・秋山明子・森高次郎
（東 大 農 学 部）

Muscle Extracts of Aquatic Animals…… I
Amino Acids, Trimethylamine and Trimethylamine Oxide in the Muscle Extracts of a Squid, *Ommastrephes sloani pacificus*

Shōji Kōnosu, Teruko Akiyama and Takajiro Mori

Seventeen amino acids in the alcoholic extracts of squid muscle were microbiologically determined before and after hydrolysis, and the results obtained are given in Table 1.

Proline was most abundant and occupied about the half of total amino acids. Histidine, arginine, glycine and alanine were found to be present in a relatively high level.

After hydrolysis, the most amino acids increased rather slightly, but the following amino acids, such as glycine, aspartic acid, glutamic acid, proline and lysine increased considerably.

Trimethylamine (TMA) and trimethylamine oxide (TMO) in the same muscle were analyzed by Dyer's method (Table 2).

About fifty per cent of the extracted nitrogen have been accounted for as amino acid-N(25%), TMA-N (0.3%), and TMO-N (27.2%).

筋肉のエキス成分は生理上重要な物質または代謝生産物と考えられ，また肉の食味に関与する成分を多く含んでいるので，生理学的にも食品化学的にも興味あるものであるが，未だ充分解明されて居ない。従つてエキス中の各成分の種類ならびに含量を明らかにすることは上述の諸問題を解明する上に極めて重要なことと考えてこの研究を企てた。

イカ類筋肉のエキス成分については従来比較的よく研究されている。即ち清水は数種のイカ類のエキス窒素の分布[1] 及びグリシン含量[2]，ならびにスルメのエキス窒素の分布[3]を調べ味との関連につき論じ，石橋[4]は甲イカよりグアニン，アデニン，キサンチン，ヒスチジン，カルニチン，ベタイン，タウリン，アルギニン，オクトピンを種々の誘導体として分離し，天野（メヒカリイカ）[5]，吉村（スルメイカ）[6]，井上（スルメ及び生イカ，種類不明）[7] 等はペーパークロマトグラフィーにより種々の遊離アミノ酸の検出を行い，特に天野は鮮度低下に伴う遊離アミノ酸の消長を追跡した。一方小島[8) 9)] はスルメ或は冷凍イカ（種類不明）よりイオン交換樹脂を用いてオクトピン，タウリン，ベタイン，トリメチルアミンオキサイド，アミン類を分離定量している。

これらの研究からイカ類筋肉エキスの概要を窺い知ることは出来るが，重要な成分であるアミノ酸については個々の含量は不明で，エキス（特に窒素化合物）の詳細な組成を把握するという点では遺憾ながら不充分と言わざるを得ない。

そこで著者等は先づスルメイカ筋肉エキス中の各アミノ酸含量を明らかにしたいと考え，微生物定量法によりこれを測定した。なお乳酸菌は後述の如く低級のペプチッドをも可成り利用するので，加水分解前後のエキスについて分析を行つて比較した。

1957 年 8 月 27 日 受理

* 本報告は昭和32年4月5日，日本水産学会年会において発表した。

また同時にトリメチルアミン (TMA), トリメチルアミンオキサイド (TMO) 含量も測定したのでその結果を併せて報告する。

実 験 方 法

試 料 1956年8月上旬佐渡両津港に水揚げされたものを直に処理した。(漁獲後数時間経過していると思われる。)体重 200〜250g, 15匹を用いた。

エキスの調製 外套膜の表皮を除き, ホモゲナイズした後3倍量の80%エタノール (V/V) を加え溶温80°C で 30 分, 時々攪拌しつつ抽出, 抽出液を減圧濾過し, 残渣を再び同様に抽出する。合計3回抽出を繰返す。抽出液を合し, 減圧でアルコールを溜去, 残渣に無水エタノールを加えて減圧濃縮を繰返した, 後エーテルで繰返し抽出し, 水に溶して一定容とし, 窒素の分析及びアミノ酸定量に供した。

加水分解及びアミノ酸定量 前報[10]の通りであるが, 加水分解時間は7時間とし, 定量菌株は次の如く一部変更した。

Lactobacillus arabinosus 17-5 : Val, Glu, Try, Phe, Tyr
Leuconostoc mesenteroides P-60 : Gly, Leu, Ileu, Ser, Met, Asp, Pro, Lys
Streptococcus faecalis R : Thr, Arg, His
Leuconostoc citrovorum 8081 : Ala

TMA 及び TMO 定量 DYER の方法[11) 12)]に従つた。

全窒素及び α-アミノ窒素定量 常法に従つた。

実験結果及び考察

エキス全窒素, アミノ窒素及びアミノ酸の定量結果を第1表に示した。

Teble. 1. Amino Acids in the Alcoholic Extracts of Squid Muscle*(on fresh muscle)

	Before Hydrolysis	After Hydrolysis	
Extracted N (mg%)	776.3		
α-Amino N (mg%)	96.3	134.9	
Amino Acid	(mg%)	(mg%)	N(mg%)
Glycine	42	82	15.3
Alanine	75	83	13.0
Valine	20	31	3.7
Leucine	18	28	3.0
Isoleucine	15	25	2.7
Serine	16	25	3.3
Threonine	23	28	3.3
Methionine	12	11	1.0
Aspartic acid	trace	12	1.3
Glutamic acid	26	61	5.8
Tyrosine	4	3	0.2
Phenylalanine	6	8	0.7
Proline	479	553	67.3
Tryptophan	1.4	2.1	0.3
Arginine	99	98	31.5
Lysine	9	24	4.6
Histidine	140	139	37.6
Total	1003.4	1213.1	194.6
N recovered (%)	……	……	25.1

* The mantle was homogenized after removing the skin and extracted with hot 80% EtOH. Total nitrogen content of the muscle was 2751.5mg. per 100 g. of fresh tissue.

エキス全窒素は 776.3 mg% で原料肉全窒素の 28.2% に相当し，アミノ窒素は 96.3mg% で，これはエキス全窒素の 12.4%に相当する。これらの値は清水等の報告[2] にほぼ一致している。

加水分解前の遊離アミノ酸含量（乳酸菌が利用し得るペプチッドを含む）について見るとプロリンが圧倒的に多い。イカ類筋肉エキス中にプロリンが存在することはすでに諸氏[5) 7)] が認めているが，筆者の分析例ではその量は実に全アミノ酸の半量にも達している。天野[5] は遊離プロリンの存在はイカ類の特色で甘味に関与するであろうと述べているが，アミノ酸の中ではプロリンがアラニンやグリシンと共に肉の甘味に大いに与つていることが本実験によつて更に明確にされたものと考える。

次いでヂアミノ酸の中ではヒスチジン及びアルギニンが多く，モノアミノ酸の中ではアラニン及びグリシンが多い。遠藤[2] によるとスルメイカエキス中のグリシン含量は変動が大きく，エキス窒素中のグリシン窒素は 1.1〜3.0% と報告されている。これが季節的差異に基くものか否かは明かでないが，本実験の結果はそれより低く 1.0% であつた。

アスパラギン酸は 1mg% 以下しか存在しなかつた。或る種のアスパラギン酸類似物質が乳酸菌によるアスパラギン酸の利用を阻害するとの報告もあるが[13]，天野はメヒカリイカについてペーパークロマトグラフィーで検出して居ない。しかし同じくペーパークロマトグラフィーでその存在を認めている報告[6) 7)] もある。

定量に用いた乳酸菌は低級のペプチッドも可成り利用する。ペプチッドは通常その構成アミノ酸の活性を示すが，培地，菌株，構成アミノ酸の種類及びその配列順序，培養時間，ペプチッドの量など種々の条件によつて活性度を異にする場合がある[14)15)16)]。従つて本試料の如くペプチッドが存在すると考えられる検体のアミノ酸定量値は必ずしも遊離アミノ酸の含量を示すものではない。しかし通常はペプチッドは遊離アミノ酸よりも活性度が低いので，加水分解前後の測定値の差から（加水分解による損失がないとして）結合型アミノ酸の多寡を推定し得るし，また加水分解後の値から試料エキス中の遊離及び結合型アミノ酸の総量を知ることが出来る。

第1表に示す如く加水分解後は大部分のアミノ酸が増加したが，特にグリシン，アスパラギン酸，グルタミン酸，プロリン，リジン等の増加量が多かつた。

加水分解後の測定値からアミノ酸窒素を計算し合計すると 194.6mg% となり，エキス全窒素の 25 %に相当する窒素がこれら 17 種のアミノ酸に由来するものであることが判る。アミノ窒素の測定値からも予想される如く，スルメイカ筋肉エキスの窒素化合物のうちアミノ酸の占める割合は可成り少い。

また TMA 及び TMO は第2表に示す如くそれぞれ 9.5mg% 及び1133.9mg%で，エキス全窒素の0.3%及び 27.2% を占める。

Table. 2 TMA and TMO in the Squid Muscle*

	(mg%)	N(mg%)	N recovered(%) **
TMA	9.5	2.3	0.3
TMO	1133.9	211.4	27.2

* The same muscle as used in the amino acid analysis.

** Calculated from the nitrogen in the alcoholic extracts.

以上の如く 17 種のアミノ酸，TMA 及び TMO によつてエキス窒素のうち 50% 以上の分布が明らかとなつたが，残る 40 数%は他の窒素化合物，主としてタウリン，ベタイン，オクトピンなどに基くものであろう。こ値らの成分についても追つて測定を試みる予定である。

要　　約

1. スルメイカ筋肉の 80% エタノール溶出エキスの加水分解前後の遊離アミノ酸含量を微生物定量法により測定した。

2. アミノ酸の中ではプロリンが最も多く全アミノ酸の約半量を占め，次いでヒスチヂン，アルギニン，グリシン，アラニンが多かつた。

3. 加水分解後は大部分のアミノ酸が増加したが，グリシン，アスパラギン酸，グルタミン酸，プロリン，リジンは特に増加量が多かつた。

4. 測定した 17 種のアミノ酸窒素はエキス全窒素の 25 %を占める。

5. トリメチルアミン及びトリメチルアミンオキサイドはそれぞれエキス全窒素の 0.3% 及び 27.2%を占める。

本研究の一部は文部省科学研究費によつた。記して謝意を表する。

文　　献

1) 清水　亘，竹田正彦：本誌，**18**，233 (1952).
2) 遠藤金次，藤田真夫，清水亘：本誌，**20**，723 (1954).
3) 清水　亘：京大食糧科研報，**9**，1 (1952).
4) 石橋左五郎：西京大，**1**，71 (1953).
5) 天野慶之，尾藤方通：本誌，**16**，No. 12，10 (1951).
6) 吉村克二，久保周一郎：北大水産研彙，**3**，205 (1953).
7) 井上滿治，友広嘉久，詫摩一郎，山田幹雄：長崎医，**28**，1271 (1953).
8) Yoshihisa Kojima and Hiroo Kusakabe: J. Sci. Res. Inst., **49**, 132, 262 (1956)；**50**, 193 (1956).
9) 日下部寛男，小島善久：科研報，**32**，221 (1956).
10) 松浦文雄，鴻巣章二外 3 名：本誌 **20**，941 (1955).
11) W. J. Dyer: J. Fish. Res. Bd. Canada, **6**, 351 (1945).
12) W. J. Dyer: F. E. Dyer. and J. W. Snow: ibid., **8**, 309 (1952).
13) E. Roberts and P. F. Hunter: Proc. Soc Exptl. Biol. Med., **83**, 720 (1953).
14) W. A. Krehl and J. S. Fruton: J. Biol. Chem., **173**, 479 (1953).
15) G. Ågren: Acta Chem. Scand., **2**, 611 (1948).
16) 田村学造，角田俊直，桐村二郎，宮沢　滋：日農化，**26**，464 (1952).

水産動物筋肉のエキス成分—II. クルマエビ筋肉エキス中のアミノ酸について*

鴻巣章二・秋山明子・森高次郎
(東大農学部)

Muscle Extracts of Aquatic Animals……II Amino Acids in the Muscle Extracts of a Prawn, *Penaeus japonicus*

Shōji Kōnosu, Teruko Akiyama and Takajiro Mori

Succeeding to the previous paper,[1] in which the amino acid content of the muscle extracts of a squid was given, the present paper deals with the prawn muscle extracts.

As shown in Table 1, the pattern of amino acids in the prawn muscle extracts considerably differed from that of the squid muscle extracts.

Glycine was most abundant and occupied the half of total amino acids. Arginine, proline, serine, glutamic acid and alanine were present in a relatively high level. The content of aspartic acid was very low, as was observed in squid muscle.

After hydrolysis, the most amino acids increased slightly, but the increasing rate of glutamic acid, aspartic acid and glycine were comparatively large.

The recovered amino acid nitrogen in the analysis amounted to about 70% of the extracted nitrogen, showing that amino acids are main component of the prawn muscle extracts.

前報[1]に引続き今回は甲殻類よりクルマエビを選び，筋肉エキス中のアミノ酸含量を微生物定量法により測定したのでその結果を報告する。

エビ類筋肉エキス中のアミノ酸については，我国では清水の窒素分布[2]ならびにグリシン含量[3]の研究があり，外国においても Almeida の鮮度低下に伴う遊離アミノ酸の消長に関する定性的研究，Camien[5]及び Kermack[6]のアミノ酸含量に関する研究などがあり，可成りよく知られている。

しかしながら Camien の報告ではエキス全窒素のデータがなく，また Kermack の報告では各アミノ酸含量を α−アミノ窒素に対する百分率で表現しているが，α−アミノ窒素の絶対量の記載がないため個々のアミノ酸量が不明であるなど不満足な点が多い。

実 験 方 法

1956 年 5 月中旬，生きたクルマエビを魚市場より入手した。体重 50〜70 g のもの 12 匹を用い，尾部の筋肉を採取した。

エキスの調製法，加水分解条件，アミノ酸定量法などはすべて前報[1]通りである。

実験結果及び考察

実験の結果を表に示した。

エキス全窒素は 841 mg % で筋肉全窒素の 22.6%が抽出されたことになる。この結果は清水[2]の報告よりやゝ高い。

* 本報告は昭和 31 年 10 月日本水産学会秋期大会において発表した。
1957 年 8 月 27 日受理

Table. Amino Acids in the Alcoholic Extracts of Prawn Muscle*

(on fresh muscle)

	The present authors Prawn (*Penaeus japonicus*)			CAMIEN et al.[5] ** Lobster (*Homarus vulgaris*)	
	Before Hydrolysis	After Hydrolysis		Before Hydrolysis	After Hydrolysis
Extracted N (mg%)	841.1			………	
α-Amino N (mg%)	404.8	437.5		………	………
Amino Acid	(mg%)	(mg%)	N (mg%)	(mg%)	(mg%)
Glycine	1250	1358	253.4	1025	1025
Alanine	58	68	10.7	133	133
Valine	19	26	3.1	21	22
Leucine	17	26	2.8	8.9	9.3
Isoleucine	11	17	1.8	……	……
Serine	108	85	11.3	……	……
Threonine	15	20	2.4	9.1	8.6
Methionine	11	9	0.8	12	11
Aspartic acid	trace	43	4.5	4.6	12
Glutamic acid	65	255	24.3	44	267
Tyrosine	1	3	0.2	11	1.6
Phenylalanine	7	13	1.1	5.2	5.4
Proline	230	249	30.3	728	728
Tryptophan	0.9	1.3	0.2	……	……
Arginine	686	692	222.6	778	778
Lysine	15	24	4.6	23	24
Histidine	7	8	2.2	9.7	7.7
Total	2500.9	2897.3	576.3	2813.5	3031.6
N recovered (%)	……	……	68.5	……	……

* The homogenized abdominal muscle was extracted with hot 80% EtOH.
Total nitrogen content of the muscle was 3720.0 mg. per 100 g. of fresh tissue.

**Microbiological analysis on the tungstic acid extracts of the abdominal muscle.

加水分解前の測定値を見るとグリシンが 1250 mg%で非常に多く，全遊離アミノ酸（乳酸菌が利用し得るペプチッドを含む）の約半量を占めている。前報のスルメイカにおいてプロリンがやはり全アミノ酸の半量を占めていたのと全く対照的である。次いでプロリン，セリン，グルタミン酸，アラニンが多く，ヂアミノ酸の中ではアルギニンが極めて多い。

アスパラギン酸はスルメイカ同様，今回も痕跡しか認められなかつた。その存否については前報でも論じたが，KERMACK もペーパークロマトグラフィーで痕跡しか認めて居らず，ALMEIDA は検出して居ない。また CAMIEN は加水分解前のエキスで 4.6 mg % と報じている。これらのことから存在するにしても他のアミノ酸に比し非常に少いと考えられる。

加水分解後はスルメイカと同様に大部分のアミノ酸が増加するが，特にグルタミン酸，アスパラギン酸，グリシンの増加量が多い。

これらアミノ酸の測定値から窒素を総計すると 576.3 mg% となり，これはエキス全窒素の 68% に相当

する。スルメイカエキスの場合にはエキス全窒素のわづか 25% がアミノ酸に由来するに過ぎなかつたが，クルマエビにおいては約 70% にも達し，アミノ酸（特にグリシン及びアルギニン）がエキス窒素の主要な部分を占めていることが判り，両者の間に大きな差が認められた。

以上の測定値を Camien[5] の lobster についての結果と比較すると，グリシン，プロリン，アラニンなど豊富に存在するアミノ酸の含量にかなりの相違が見られ，また Camien の結果では加水分解によるアミノ酸の増加が殆んどなく，この点も著者等の結果と異つている。これは抽出法の差にもよるものと考えられるが，アミノ酸含量の全般的傾向は非常によく一致している。

要　約

1. クルマエビ筋肉の 80% エタノール溶出エキス中の遊離アミノ酸を微生物定量法により測定した。
2. アミノ酸の中ではグリシンが最も多く全アミノ酸の約半量を占め，次いでアルギニン，プロリン，セリン，アラニンが多かつた。
3. 加水分解後は大部分のアミノ酸がわづかづつ増加したが，特にグルタミン酸，アスパラギン酸，グリシンの増加量が多かつた。
4. 測定した 17 種のアミノ酸窒素はエキス全窒素の約 70% を占め，スルメイカに比し大きな差が認められた。
5. クルマエビエキスの窒素化合物の中ではアミノ酸が主要な成分であると考えられる。

本研究の一部は農林漁業応用試験研究費補助金によつた。記して謝意を表する。

文　献

1) 鴻巣章二・秋山明子・森高次郎： 本誌，**23**, 561 (1958)
2) 清水亘・藤田真夫： 京大食糧科研報，**14**, 18 (1954).
3) 同上： 本誌，**20**, 720 (1954).
4) Maria Elisa Wholers de Almeida : Rev. Inst. Adolfo Lutz, **15**, 158 (1955).
5) M. N. Camien, H. Sarlet, G. Dûchateau and M. Florkin : J. Biol. Chem., **193**, 881 (1951).
6) W. O. Kermack, H. Lees and J. D. Wood : Biochem. J., **60**, 424 (1955).

クロールテトラサイクリン (CTC) で処理した底曳魚及びこれを用いた煉製品中の CTC 量

富山哲夫・米　康夫・津田　厚
(九州大学農学部水産化学教室)

The Chlortetracycline(CTC) Content of CTC-treated Fish and of "Kamaboko" Made from the Treated Fish

Tetuo TOMIYAMA, Yasuo YONE, and Atsushi TSUDA

Only as small amount as 0.1 *mcg* per *g* was found in the flesh of "Tai" Which was kept under CTC-ice (5 *ppm*) for 18 days in a cold room (about 5~10° C.). After a 3-hour dip in CTC-sea water (10 *ppm*) the flesh of croaker and sea eel was found to contain only about 0.05 *mcg* per *g*.

When both croaker and sea eel which had been subjected to a 18-hour dip were used to make "kamaboko", the content of CTC was decreased on processing from 0.98 *ppm* to 0.11 *ppm* It was further found that when CTC was included in "kamaboko" -material at levels of 0.1 *ppm* and 0.36 *ppm*, the residuals in "kamaboko" were negative (less than 0.025 *ppm*) and 0.06 *ppm*, respectively.

緒　　言

オーレオマイシン (以下 CTC と略す) によつて腐敗し易い獣鳥魚肉の鮮度が保持できることについては最近多数の破究[1] がある。水産物についてはフイレーを CTC 処理した研究は多いが，魚体のまゝ CTC 液或は CTC 氷で保鮮処理した研究は諸外国にもその例が少く，主としてわれわれの研究の業績[2] が引用されている。第1報より第4報まではイワシ，サバ，ウルメイワシ及び底曳魚の鮮度保持に対する効果につき論じ第5報では魚体内の浸透と熱破壊について報告した。

本研究では CTC 氷により保蔵された底曳魚を煉製品原料として用いた場合，どの程度の CTC が蒲鉾中に残存するかを知る目的を以て，CTC 氷或は液によつて底曳魚を研究室で保蔵処理した場合の魚体内への浸透量を明らかにし，更にこの保蔵原料を用いて蒲鉾を製造した場合の CTC の残存量を求めた。

研　究　方　法

CTC 定量法： Abbey の Pad plate assay 法[3,4] に準じて定量した。即ち試料 20 g に抽出剤 ($^{M}/_{10}$ KH_2PO_4,[3] 或は pH 4.2 のアセトン[4]) 80 cc を加え，ミキサーで充分に細切混合した後，氷で冷却しつゝ濾過するか，或は冷蔵庫に放置して得た澄明液を定量に供した。但し標準液には CTC で処理していない魚或は CTC を添加していない蒲鉾の 20 g を用うるように変改し，これに抽出剤 80 cc を加え，充分に細切混合した後， 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 及び 0.3125 mcg/cc の液を 2 cc 加え，再び混合し，濾過或は冷蔵庫に放置して得た液を用い標準曲線を画いた。

原料魚： 煉製品原料として広く用いられているキングチ (*Pseudosciaena manchurica*) 及びハモ (*Muraenesox cinereus*) を用いた。いづれも福岡港に陸揚げしたものを入手し，鮮度は比較的良好であつた。

研　究　結　果

1. CTC の魚体内浸透

* 1957 年 10 月 8 日受理 (印刷費負担)

a. CTC 氷で氷蔵したタイ

キダイ (*Taius tumifrons*) を直接 5 *ppm* の CTC 氷で 18 日間氷蔵した後，皮及び肉中の CTC 量を H 4.2 のアセトンを用いて抽出し，同じく 18 日間普通氷で氷蔵したものを用いて画いた標準曲線により TC を定量した。なおこの場合 5～10°C の冷蔵庫に放置したので CTC 氷は徐々に融解し，CTC 液が魚体表面を絶えず洗つていたと推察される。Table 1 にみられるように，CTC 氷で保蔵した場合には表皮は TC を比較的多く含むが肉は極めて微量の CTC を含むに過ぎなかつた。

Table 1. CTC-content of edible part of "tai" stored under CTC-ice at 5--10°C.

Species of fish	Kinds of ice	CTC-content (ppm)	
		Flesh	Skin
"Kidai"*	Plain-ice	0	0
"Kidai"	CTC-ice	0.16	1.15
"Chidai"**	CTC-ice	0.10	2.65

* *Taius tumifrons* ***Evynnis japonica*

b. CTC 液に浸漬したキングチ及びハモ

10 *ppm* の CTC 海水溶液 44 *l* にハモ約 10 *kg* とキングチ約 4 *kg* を浸漬し，浸漬後 30 分，1，3，6，及び 18 時間後にハモ 2 尾とグチ 4 尾をとり出した。浸漬温度は平均 13°C であつた。先ず魚体表面を軽く水洗した後，グチは全部から皮及び肉をとり，ハモは 2 尾のそれぞれ片側面の皮及び肉をとつて細切混合した後，20 g をとり，pH4.2 のアセトンを用いて抽出後定量した。Table 2 の結果は明らかに皮に浸透量が多，肉に少いことを示している。また 3 時間以内の浸漬では，いづれの魚種の場合にも肉中の CTC 浸透量は痕跡に過ぎなかつた。しかし浸漬 18 時間後には肉中にもかなり増加した。

Table 2. Rate of penetration of CTC in sea eel and croaker when dipped in CTC-sea water.

Species of fish	Tissue	CTC (*ppm*)				
		30 min.	1 hr.	3 hrs.	6 hrs.	18 hrs.
ea eel *	skin	0.64	0.40	0.56	1.22	3.36
	flesh	0.06	0.03	0.05	0.39	0.58
ellow croaker **	skin	0 34	0.33	0.61	1.09	1.44
	flesh	0.03	0.03	0.05	0.08	0.38

* *Muraenesox cinereus* ** *Pseudosciaena manchurica*

2. CTC 液に浸漬した魚を原料とした蒲鉾の CTC 量

CTC 液に浸漬した底曳漁獲物を原料として蒲鉾をつくつた場合に，その製造過程中に於ける CTC 量の変化を知る目的で本実験を行つた。

12.4 *ppm* の CTC 海水溶液 70 *l* に約 15 *kg* のグチと 15 *kg* のハモを 18 時間低温 (2～5°C) で浸漬した後，頭部内臓を除き，採肉機により骨及び皮を除いた。えられた肉部はグチ肉のみ水晒を行い，次にハモ

Table 3. CTC residual in "Kamaboko" made from fish which were dipped in CTC-sea water.

Step of processing	Kinds of sample	CTC (ppm)
Prior dipping	Sea eel flesh	0
	Croaker flesh	0
After dipping	Sea eel skin	3.6
	〃 〃 flesh	1.74
	Croaker skin	3.6
	〃 flesh	1.01
After washing of ground flesh	Croaker flesh	0.82
Well washed ground flesh		0.77
After adding starch, salt, glutamate, etc.		0.98
"Kamaboko"		0.11

肉と共にチョッパーで細切した後，擂潰し，澱粉，味の素，食塩，サッカリン等を混和して肉糊を作つた。これを小板に成形後，せいろで蒸煮した。

原料魚の CTC 液浸漬前及び後の皮及び肉，水晒後のグチ肉，擂身，肉糊及び蒲鉾に含まれた CTC の量は抽出剤として KH_2PO_4 を用いる Pad plate assay 法で測定された。その結果は Table 3 の通りである。

この表からわかるように，CTC 液に長時間浸漬すると表皮にくらべて少いが，微量の CTC が肉中に浸入した。浸入量はハモの方がグチよりも大であつた。他方製造過程では原料の水晒し後に 20% 程度の減少がみられた。しかし著明な減少は肉糊より蒸煮して製品とする工程であつて，約 90% が破壊したことは注目すべきである。一般漁獲物の場合に上記のように長時間船上で CTC 浸漬することは全く不可能である。従つて本研究では実際にありえないような極端な場合にどの程度製品中に残存するかを知る目的を以つて行つたものである。

3. CTC を添加した肉糊を用いた蒲鉾中の CTC 残存量

キングチ及びハモを原料とし，常法通り採肉，水晒，擂潰，混和して得た肉糊に CTC を添加し 0.75, 0.36 及び 0.11 *ppm* の CTC を含有する肉糊をつくつて成形後蒸煮した。各区共5本の蒲鉾をチョッパーで細切混合した試料を2ケ作り，それぞれ 20 g を秤取し，pH 4.2 のアセトンを用いる pad plate 法で定量した。表中の値はそれらの平均である。 Table 4 で明らかなように 0.1 *ppm* を含む肉糊で製造した蒲鉾にはもはや CTC は検知されなかつた。肉糊の CTC が 0.36 *ppm* 以上の場合にはいずれも CTC の残存量が検知されたが，その残存量は原料の 15～17% に過ぎなかつた。

Table 4. CTC residual in "kamaboko" made from ground flesh which includes known of amounts of CTC

Ground flesh paste added with CTC	"Kamaboko"	% remained
ppm	ppm	
0.11	0	0
0.36	0.06	17
0.75	0.11	15

論　　議

CTC 氷 (5 ppm) で保蔵した魚体の肉中には 0.1 *ppm* 程度しか浸入していない(Table 1)。他方 0.1 *ppm* の CTC を蒲鉾製造原料肉糊中に添加した場合には，製品中に CTC は検知されていない(Table 4)。この二つの事実は CTC 氷で保蔵した底曳魚を用いて蒲鉾を製造した場合には，CTC は製品中に存在しないだろうとの裏づけをなしている。

なお，参考として CTC 液 (10 *ppm*) に長時間浸漬して極端に CTC を浸透させたグチ及びハモを材料に用い，蒲鉾を製造する工程における CTC 量の変化を追跡してみたところ，この場合でさえも製品中の CTC 残存量は 0.11 *ppm* に過ぎなかつた (Table 3)。他方原料の浸漬中における CTC の浸透量をみると，3時間浸漬迄は肉中の CTC は 0.05 *ppm* 程度であるから (Table 2)，船上で短時間浸漬処理した原料を蒲鉾製造に用いても差支えないといえる。

これらの値を米国で実施している CTC 液 (10 *ppm*) に2時間浸漬した鳥肉中の CTC 量 1～5 *ppm* と比較すると，極めて大きな差異である。魚類の場合に浸入量が極めて少いのは明らかに表皮によつて CTC の浸透が妨げられているためである。

他方，最近米国の FDA (Food & Drug Administration) では CTC 浸漬した鳥肉を料理した後の CTC 残存量を検査したところ 0～0.1 *ppm* の範囲で，多くの場合 0.05 *ppm* 程度であつた。依つてこの程度の残存量によつて菌の耐性発現，アレルギー発現等の危険が起るかどうかを，全米の 35 人の専門学者に諮問した結果，全部の回答はその可能性を全く否定した。従つて筆者の一人 (富山) が 1957 年 3 月に FDA を訪問し，この点を質疑したところ，「この程度の残存量については安全なもの」として無視していることを明かにした。

この 0～0.1 *ppm* の残存量の範囲を一応参考にして本研究の結果をみると，CTC 氷で保蔵した原料の場合には，肉中の CTC は 0.1 *ppm* 程度であるから，生食も可能と思われる。 またたとえ加工原料中 0.5 *ppm* 含んでいたとしても蒲鉾中の CTC 量は 0.06 *ppm* となり無視し得られる範囲にある。

以上の論議から CTC 氷による一般魚肉の保蔵処理は全く安全なものであると断定できる。

結　　　論

1. CTC 氷 (5 *ppm*) で 18 日間タイを保蔵した場合, 肉中の CTC 量は 0.1 *ppm* 程度であつた。

2. CTC 液 (10 *ppm*) にグチ及びハモを浸漬処理した場合には3時間浸漬後の肉中の CTC は 0.05 *ppm* 程度であるが, 以後時間の経過と共に増量した。

3. CTC 液 (10 *ppm*) に 18 時間浸漬したグチ及びハモを原料として蒲鉾を製造した場合に, 原料肉糊中には 0.98 *ppm* の CTC を含んでいたが, 蒲鉾中には 0.11 *ppm* に過ぎなかつた。

4. 蒲鉾製造原料の肉糊中に CTC が 0.1 *ppm* 存在する場合には製品中に CTC は認められなかつた。肉糊に CTC が 0.36 *ppm* 存在する場合には製品中に 0.06 *ppm* の残存量に過ぎなかつた。

5. 最近の米国の FDA が行つた CTC 処理鳥肉の抜とり検査の結果及び残存量についての諮問委員会の結論に対し本研究の値を照合した結果, CTC 氷で保蔵した底曳魚を蒲鉾の原料として使用することの安全性を結論した。

本研究は日本レダリーK. K. の援助により実施することが出来た。こゝに謝意を表する。

文　　　献

1) Goldberg, H. S., Weiser H. H., and Deatherage. F. E. : *Food Technol.* 7, 165 (1953).
Kersey, R. C., Viser F. C., and Wrenshall : *Antibiotics Ann.* 1953–1954, 438.
Kohler, A. R., Miller, W. H., and Broquist, H. P., : *Food Technol.* 9, 151 (1955).
McClintock, M., Serres, L. Marzolf, J. J. Hirsch, A., and Mocquot, G. : *J. Dairy Research* 19, 187 (1952.)
Tarr, H. L. A., Southcott, B. A., and Bisset, H. M. : *Fish. Res. Bd. Canada, Progress Report*, 83, 35 (1950)
Tarr, H. L. A., Southcott, B. A., and Bisset, H. M. : *Food Technol.*, 6, 363 (1952).; Tarr, H. L. A., Boyd, J. W., and Bisset, H. M. : *J. Agric. Food Chem.*, 2, 372 (1954).; Farber, L. *Food Technol.*, 8, 503 (1954).
2) 富山哲夫・野村稔・黒木俊一 : 本誌, **21**, 262 (1955).
富山哲夫・黒木俊一・野村稔 : 本誌, **21**, 958 (1955).
富山哲夫・黒木俊一・前田伝喜・浜田盛治・本田彰 : 本誌, **22**, 120 (1956).
富山哲夫・米康夫・黒木俊一・野村稔・原昭太郎・七字徹・前田敏弘・小田一郎・松尾俊朗 : 本誌, **22**, 128 (1956).
富山哲夫・米康夫・三ケ尻和男 : 本誌, **22**, 778 (1957).
3) Abbey, A : 私信, 1957.
4) Abbey, A., Darken, M. A., Kline, E. F., Kohler, A. R., Maturi, V. F., Miller, W. H., and Upham, S. D. : *Antibiotics Ann.* 1956–1957, p. 831.

クロールテトラサイクリン (CTC) で船上処理した底曳魚のCTC含量並びにこの処理魚を調理或は煉製品に製造した場合の CTC 残存量

富山哲夫・米　康夫・津田　厚
(九州大学，水産化学教室)

The Chlortetracycline (CTC) Content of Trawl Catch Treated on Board and Residual CTC in Edible Part on Cooking and Processing of Treated Fish

Tetuo TOMIYAMA, Yasuo YONE, and Atsushi TSUDA

Several species of fish caught by trawler were placed under CTC-ice (3.5 ppm) or dipped in CTC-sea water (10 ppm) immediately after catch. The fish thus treated were stored aboard for 14 or 22 days. The penetration of CTC into the flesh and the skin during the storage period was assayed microbiologically using *B. cereus* No. 213. A study was also made of what extent the CTC in the edible part be destroyed due to cooking and also processing to "kamaboko". The results can be summarized as follows :

1. Of several species of fish (cutlass fish, butter fish, croaker, lizard fish, sea eel and harvest fish) the skin contained 0.11 mcg CTC per g in average after a 22-day storage, while the flesh contained 0.08 mcg CTC per g in average.
2. In processing the CTC-containing flesh (0.05 – 0.1 ppm) to "kamaboko" the residual CTC was found 60% after washing the ground flesh, and no CTC was detected after steaming for 11.5 minutes, the highest temperature at the center portion being 81°C.
3. The residual amount of CTC of five species of the fish was not detected after being cooked by regular four cooking methods except boiled lizard fish, broiled sea eel and fried cutlass fish.

I 緒　　言

1950年に TARR 氏等[1] が Chlortetracycline (CTC と略記) による魚肉の鮮度保持が極めて有効なことを確認して以来，多数の研究[2,3] が報告されている。これらの報告のうちで round fish のまゝ船上で処理保蔵した研究は比較的に少い。著者の研究室では 1953 年以来 CTC による round fish の鮮度保持に関する基礎的[4] 及び応用的研究[5,6] を展開し，イワシ[5] 及び底曳漁獲物[6] を CTC によつて船上処理するとそれぞれ卓越した鮮度保持効果がえられることを明かにした。更に進んで著者等[7] は CTC 処理によつて食品原料中に CTC がどの程度浸透し，またどの程度加熱によつて減少するかについて研究を行つた。その結果では魚肉を CTC 液に浸漬処理すると CTC は相当早く浸透するが，round fish の場合には CTC の浸透量は多くの場合 0.1 *ppm* 以下であり，しかも筋肉中に浸透した CTC は加熱により比較的容易に破壊されることが明かとなつた。他方，TARR 氏等[9] も CTC の加熱破壊について同様の結果を報告している。

他方において round fish を CTC 氷で船上処理した場合の CTC の浸透量については，報告が見当らない。たゞ FIRMAN 氏等[3] が内臓抜きの魚類に CTC 氷を陸上輸送中に使用し，この場合の CTC 浸透量を報告しているだけである。またこのような処理原料より種々の食品を製造或は調理した場合の CTC の破壊についての研究は全く見当らない。前報[8] ではわれわれは浸透量や加熱破壊の様相をしるための一つのモデル実験として底曳魚を冷蔵庫内で CTC 氷を用いて保蔵した場合，及び CTC 液に浸漬した場合における魚

1957 年 10 月 8 日受理 (印刷費負担)

体内への CTC 浸透量を測定し，更にこれらの保蔵原料を用いて蒲鉾を製造した場合の残存 CTC 量について報告した。

本研究では実際にトロール船上で漁獲直後より陸あげ迄 CTC 氷による保蔵を行い，また，他方漁獲直後 CTC 海水液に短時間浸漬した魚体を船上で普通氷による保蔵を行い，これらを陸あげ後に CTC の浸透量を bioassay した。更にこれらの原料を種々の調理法にかけた場合及び煉製品を製造した場合におけるこれら食品中の CTC 残存量をも bioassay した。以下これらの結果につき報告する。

II 研 究 方 法

1. 底曳魚の船上処理

東支那海に 1957 年6月 15 日出港したトロール船の上で，6月 21 日及び 29 日に漁獲したものを洗滌後，直ちにトロ箱に詰め，魚体をサランパーチ（網状サラン）で蓋い，次に船艙で CTC 氷（3.5 *ppm* の CTC を含む）をのせて常法のように氷蔵した。同時にこれら漁獲物の一部を CTC の 10 *ppm* を含む海水に約1分間浸漬したものを同様にトロ箱につめ，サランパーチで蓋い，次に普通氷をのせ常法のように氷蔵した。これらの試料は7月 13 日帰港後，直ちに陸あげした。

魚種はタチウオ（*Trichiurus lepturus*），イボダイ（*Psenopsis anomala*），シログチ（*Argyrosomus argentatus*），ワニエソ（*Saurida tumbil*），ハモ（*Muraenesox cinereus*），マナガツオ（*Pampus argenteus*）及びアカアマダイ（*Branchiostegus japonicus japonicus*）であつた。このうちアマダイは一網の漁獲物中尾数が少かつたので，調理中における CTC の破壊の実験にのみ用いた。陸あげ当日だけでは全部の定量が終らないので直ちに凍結し，3日間内に全部の CTC 定量を終るように注意した。

2. 可食部内への CTC 浸透量の定量用試料

一魚体毎に CTC を定量して個体差をも検討すべきであるが，試験区が多いため約 10 尾からえた試料を均一化し，これから2ケの試料をとり定量した。試料は陸あげ当日定量したもの以外は定量前に先づ解凍した。次いで表面を軽く水を流す程度に洗い，頭部，内臓及び脊椎骨を除いて可食部を分ち，更にこれを皮と肉とに可及的に分けた。かようにしてえた皮及び肉部をそれぞれ別個に約10尾分を合せて肉挽器にかけ，次に blender でよく混和細砕したものをそれぞれ試料とした。

3. 料理による破壊率定量用の試料

普通に調理する場合と同様に供試魚体から先づ鱗を除き，内臓，頭部及び鰭を除いた後水洗した。次にこれを脊椎骨と直角に 3～4 等分し（但しタチ，ハモは 5～7 等分），その各部より少量の材料を分取して均一化し，この試料の CTC 含量を以て料理前の値とした。残部はみなそれぞれの料理処理を行い，料理した切身は全部を blender で細切混和均一にして試料とした。

4. 料 理 方 法

a) 水煮：エソの切身7ケ（平均 48 *g*）とアマダイの切身6ケ（平均 84 *g*）の合計 844 *g* の切身を予め沸とうした約2％食塩水 3.5 *l* に投入して煮た。6分 25 秒後に煮上つたので直ちに沸とう水を除去し肉片を定量に供した。

b) 煮付：沸とうした砂糖醤油（醤油 270 *cc*，水 130 *cc*，砂糖 24 *g*）400 *cc* にマナガツオの切身8ケ（平均 108 *g*），グチの切身 10 ケ（平均 40 *g*）及びアマダイの切身5ケ（平均 84 *g*）の合計 1684 *g* を投入し，11 分 25 秒間煮た。煮上つた後直ちに煮汁から分離し，肉片を定量に供した。

c) 塩焼：塩をまぶしたハモの切身 16 ケ（平均 19 *g*）とマナガツオの切身9ケ（平均 108 *g*）及びタチウオの切身 14 ケ（平均 40 *g*）を炭火より 5 *cm* の距離（この点の温度は 282°C であつた）で焼いた。ハモは3分後，タチウオは3分 30 秒後に，マナガツオは5分後に裏返し，焼始めより7分 10 秒後にハモが，12 分後にタチウオが，10 分 15 秒後にマナガツオが焼上つた。マナガツオ切身の中心温度を Fig. 1 に示した。

d) フライ：220～230°C に加熱した油中に予め小麦粉とパン粉をつけたマナガツオの切身8ケ（平均 108 *g*）とタチの切身 10 ケ（平均 40 *g*）を一回に 2～3 ケづゝ数回に分けて投入し，1分 35 秒から3分10秒間油煤した。この間の油の温度変化は 160°C より 220°C に上昇した。

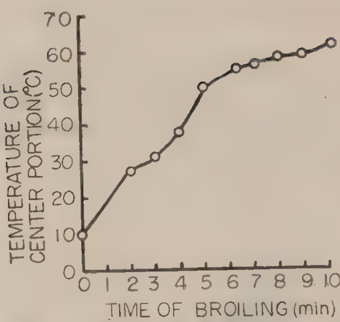


Fig 1. Change of temperature of center portion of harvest fish with time of broiling.

5. 蒲鉾製造方法及び CTC 定量用試料の調製

CTC 氷で氷蔵した魚種のうちタチウオとグチとが最も多量の CTC を含んでいたので，この両者を混合して板付蒲鉾をつくつた。なお参考のために CTC 液に浸漬後，普通水で氷蔵した同種魚を用いて全く同一条件で板付蒲鉾をつくつた。製造方法は常法通り頭部，内臓及び皮を除いた肉を3回水洗した後，ミンチで擂砕し，タチウオ 75 に対しグチを 25 の割合で混合した。この擂潰中に原料に対し 10% の澱粉，3%の食塩，0.2% のグルタミン酸ソーダ及び2%の砂糖を添加した。擂潰 50 分の後成形し，蒸釜で 9～12 分間蒸煮した。なお蒸煮中の最高中心温度は 76°C と 81°C の二通りとし，各区共2個の蒲鉾の中心温度を熱電対で測定した。中心温度の変化は Fig. 2 に示してある。76°C の場合は 68°C となつた時，また 81°C の場合は 75°C となつた時に釜より取出して放冷したが，中心温度は釜出後一時上昇し，2分後に前者は 75.1°C に，後者は 80.9°C に達し，その後次第に降下した。放冷後一区より5本の蒲鉾をとり出し，blender で細切混合した後，これより2ケの試料をとり定量に供した。

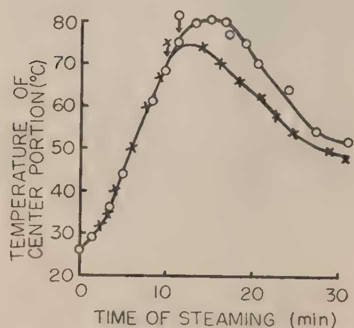


Fig. 2 Change of temperature of center portion of "Kamaboko" during and after steaming. −81°C. −×−76°C.

6. CTC の bioassay

Abbey 氏等[10]の Pad plate assay 法では 85% 以上の回収率をえることは困難であつたから，従来われわれの研究室では CTC を含まない試料に種々の濃度の CTC を加えて得た抽出液を用い定量の度毎に標準曲線を描いて不完全な回収率の変動を補正していた。これは試料の数が多い場合には極めて繁雑となるので，本研究では回収率のよい抽出剤について研究し，或程度の目的を達した。定量法の詳細は別報に報告するが，その骨子は次の通りである。

よく擂砕混和した組織 20 *g* に抽出剤 (350 *cc* 0.1 *M* citrate buffer, pH 5.2+650 cc acetone) の 80 cc を加え，Waring blender で約3分間攪拌抽出し，濾過する。この透明濾液に pad plate (1/4", No. 740 E) を浸し，余分の液を去つたものを検定用培地上にのせ，次に冷蔵庫に約1時間放置した後， 30°C の恒温器に一夜 (13～16 時間) 放置し，生じた阻止帯の直径を測定する。他方，既知濃度の CTC のクエン酸アセトン液 (0.005 *mcg*～0.1 *mcg/cc* pH 5.6 の抽出剤) で標準曲線を描くこと及び検定用培地上に 0.05 *mcg/cc* の標準液をおくことは常法通りである。このような方法でえられた回収率は約 93% であつた。

CTC 定量用の培地としては pH 5.6 に調製した Penassay medium の多少変改したものを用いた。この培地は加圧殺菌後 50°C に冷却した後に適量の *B. cereus* No. 213 の胞子を混和したものであつて，径 9 *cm* の平底シャーレに 5 *cc* の培地を流し込むようにした。この培地を用いた場合には CTC への感度は 0.005 *mcg/cc* であつた。

Ⅲ 実 験 結 果

1. CTC 氷蔵の場合或は CTC 液に浸漬した場合における CTC の魚体内への浸透

漁獲後陸あげまでの 14 日間或いは 22 日間，3.5 *ppm* の CTC を含む氷で保蔵した底曳魚について，また 10 *ppm* の CTC 海水に約1分間浸漬した後に普通水で氷蔵した同種底曳魚について，それぞれ皮及び肉中に浸透した CTC 量を定量した結果は Table. 1 に示す通りである。CTC 氷による 22 日間氷蔵の場合，タチウオ及びマナガツオの肉にのみ 0.03 *ppm* の CTC が認められたが，他のイボダイ，シログチ，エイ及びハモの肉には CTC は定量限界 (0.025 *ppm*) 以下であつた。また 14 日間氷蔵の場合，すべて肉

Table 1. The penetration of CTC into edible part of fish on storage in CTC-ice or in plain ice after a short dip in CTC-sea water.

Treatment	Kinds of fish	Time elapsed after the treatment: 22 days — Flesh	22 days — Skin	22 days — Calc. for edible	14 days — Flesh	14 days — Skin	14 days — Calc. for edible
Stored in 3.5 ppm CTC-ice	Cutlass fish * "Tachiuwo"	ppm 0.03	ppm 0.12	ppm 0.07	ppm neg.	ppm 0.11	ppm 0.05
	Butter fish ** "Ibodai"	neg.	0.05	0.01	neg.	0.05	0.01
	Croaker *** "Shiroguchi"	neg.	0.08	0.01	neg.	0.25	0.04
	Lizard fish † "Eso"	neg.	0.11	0.03	neg.	0.20	0.05
	Sea eel § "Hamo"	neg.	0.17	0.04	neg.	0.27	0.06
	Harvest fish †† "Manakatsuo"	0.03	0.15	0.06			
Stored in plain ice after a short dip in 10 ppm CTC-sea water	Cutlass fish	0.18	0.28	0.22			
	Butter fish	0.08	0.16	0.09	0.07	0.18	0.09
	Croaker	0.08	0.17	0.09	0.14	0.52	0.20
	Lizard fish	0.08	0.16	0.06	0.12	0.22	0.15
	Sea eel	0.03	0.15	0.06	0.05	0.28	0.05

* *Trichiurus lepturus* ** *Psenopsis anomala* *** *Argyrosomus argentatus*
† *Saurida tumbil* § *Muraenesox cinereus* †† *Pampus argenteus*

Table 2. Change in CTC-content after cooking of fish stored in CTC-ice. The fish without head, viscera and scales were cut into 3 or 4 pieces and employed for cooking.

Kinds of fish	Fresh material	Boiling with water	Boiling with soy-sauce	Broiling	Frying
"Amadai" *	ppm 0.025	ppm neg.	ppm neg.	ppm	ppm
Lizard fish	0.08	0.07			
Sea eel	0.11			0.09	
Harvest fish	0.03		neg.	neg.	neg.
Cutlass fish	0.10		neg.	neg.	0.04

* *Branchiostegus japonicus japonicus*

Table 3. Decrease in CTC-content at several stages in making "kamaboko" by using cutlass fish (75 %) and croaker (25 %).

Treatment of round fish	Ground flesh — Before washing	Ground flesh — After washing	Mixture of washed ground flesh with starch, salt and glutamate	Steamed at max. temp. of 76°C.	Steamed at max. temp. of 81°C.
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
CTC-ice	0.05	0.03	neg.	neg.	neg.
CTC-dip	0.10	0.06	0.04	0.03	neg.

中の CTC は 0.025 *ppm* 以下であつた。皮には保蔵日数を問わずいずれの場合も 0.05～0.27 *ppm* の CTC が認められた。次に CTC 海水に浸漬した後に普通氷で保蔵した場合は CTC 氷のみによる保蔵の場合より CTC の浸透量が大きく，肉に 0.03～0.18 *ppm*，皮に 0.15～0.52 *ppm* の CTC が認められた。特にこの場合もタチウオには他の魚よりも多量の CTC が浸透した。

2. 料理による魚体内 CTC の破壊

CTC 氷で保蔵してきた魚の切身が水煮，煮付，塩焼或いはフライのような調理後に切身の中にどの程度の CTC を保有するかを定量した結果は Table 2 に示す通りである。これからわかるように，水煮したエソ，塩焼したハモ及びフライにしたタチウオを除いて，他の煮付，塩焼或いはフライしたマナガツオ，タチウオ及びアマダイでは残存量は定量限界 (0.025 *ppm*) 以下であつた。

3. 蒲鉾に製造した場合の原料中の CTC 破壊

CTC 氷のみで保蔵したか或いは CTC 液浸漬後普通氷で保蔵したタチウオ及びグチを原料としてそれぞれ板付蒲鉾をつくりその蒲鉾製造中に於ける CTC の破壊率を定量した結果は Table 3 に示す通りで，いずれの原料を使用した場合でも水洗で CTC の約 40% が消失し，加熱蒸煮で定量限界 (0.025 *ppm*) 以下の量になつた。

Ⅳ 考　　察

本研究で用いた著者等の改良 microbioassay では抽出剤を改良したために CTC の回収率が 80～85% より 90～95% に上昇し，また *B. cereus* No. 213 の胞子を用いたためか阻止帯の境界が明瞭となつた。従つて残存量として 0.025 *ppm* はかなりよい精度で定量できるようになつた。このことは微量の残存量を問題とする研究には一つの大きな寄与といえる。

さきにモデル試験として著者等[8] が行つたレンコダイ及びチダイの CTC 氷による保蔵試験では筋肉中に 0.10～0.16 *ppm* の CTC が浸透した。この場合には 5～10°C の冷蔵庫に保蔵したために CTC 氷の融解した液が絶えず魚体の表面を蓋つたので，CTC の魚体内への浸透量が比較的に多かつた。しかし実際の漁曳の貯蔵場所は殆んど 0°C であるから，魚体がこの温度に達する迄（多くの場合約15時間）にとけたCTC氷のみが魚体の表面におけるCTC 補給量とみられる。従つて実際の場合には前回のモデル試験よりも CTC の浸透量は少いものと予察された。本研究の結果はこの推察の正しいことを示した。即ち船上で 3.5 *ppm* の CTC 氷中に 22 日間保蔵した場合には表皮に CTC が 0.05～0.17 *ppm* の範囲，平均 0.11 *ppm* 含まれていたのに対し，筋肉部位には neg. ～0.03 *ppm*，平均 0.005 *ppm* に過ぎなかつた (Table 1)。これは著者等[7] が浸漬の場合に既に確かめたように round fish では表皮が CTC の浸透をさまたげているためと解釈される。14 日間保蔵の場合には 22 日の場合に比し表皮には多量の CTC が存在したが，筋肉には0.025 *ppm* 以下であつた (Table 2)。筋肉及び表皮の CTC 含量と可食部内のそれら組織の比率とから可食部中の CTC 含量を計算した値は 0.1 *ppm* 以上の例は全くなく，0.01～0.07 *ppm* の範囲で平均 0.04 *ppm* であつた。従つて CTC 氷で保蔵した漁獲物は生食したとしても米国 FDA の専門委員の見解を適用すれば CTC に対する耐性菌の発現，過敏症，菌交代症等の懸念はありえない。

次に船上で漁獲物を直ちに 10 *ppm* の CTC の海水溶液に約 1 分間浸漬した後に普通氷で船上保蔵した場合の CTC の浸透量をみると，浸漬せずに CTC 氷のみで保蔵した場合に比していくらか多い。即ち筋肉中には 0.03～0.18 *ppm*，平均 0.09 *ppm* であり，0.1 *ppm* をこえた例は 9 例中 3 例であつた。皮及び鱗を含む可食部中の含量を計算した値では 0.05～0.22 *ppm*，平均 0.11 *ppm* であり，0.1 *ppm* をこえた例は 9 例中 3 例であつた。同一漁期のものゝうちで浸透量の比較的多かつた魚種はタチウオである。これは前報[7] で論じたように，表皮に鱗が発達していないためと，体形が扁平なために筋肉に浸入しやすいのであろうと推察される。

更に CTC 氷で保蔵したものを調理した場合にどの程度 CTC が残存するかを検討してみると (Table 2)，比較的多量に CTC を含んだタチウオの場合でさえも，煮付，塩焼或はフライすることによつて常に 60% 以上破壊することがわかつた。0.03 *ppm* の CTC しか含まないアマダイ及びイボダイでは殆ど検出できない程度に減少した。但しエソの水煮及びハモの塩焼では減少率が僅かであつた。これはハモの場合には加熱時間が短かかつたことと，肉が厚いので皮がこげる割合に肉の温度が上昇しなかつたためと思われ，エソ及

びアマダイの水煮の場合には普通の調理の場合と異り，約6分 25 秒後に熱湯を捨て去つた為に加熱持続時間が短かかつたのであろう。いずれにしてもこれら調理食品の CTC 含量は neg. ～0.09 *ppm* の範囲にあり，平均 0.025 *ppm* であつて，0.04 *ppm* を越えた例は 10 例中2例に過ぎなかつた。

更に CTC 氷で保蔵するか或は CTC 液に浸漬後普通氷で保蔵した魚種のうちで CTC 含量の多かつたタチウオを 75% 用い，エソを 25% 配合して煉製品を製造した結果 (Table 3) では肉晒しにより CTC の約40% が減少した。CTC 氷蔵区の原料を用いた場合には，中心温度最高 76°C (70°C 以上加熱時間7分) 及び 81°C (75°C 以上加熱時間9分) に加熱すると，いずれの場合にも CTC は製品中に検出されなかつた。次に CTC 浸漬区の原料で 0.1 *ppm* を含むものでは，最高中心温度 76°C の場合のみ 0.03 *ppm* が検出されたに過ぎなかつた。かように CTC 氷による保蔵或は CTC 液浸漬のいずれの方法によつて底曳漁獲物を処理保蔵したとしても，一般の煉製品製造条件では原料中の CTC は検出限界程度以下に減少することが明かとなつた。

Ⅴ 摘　　要

トロール船の漁獲物を船上でトロ箱に詰めた後，直ちに CTC 氷 (3.5 *ppm* CTC) を載せて船内保蔵したもの及び船上で CTC の海水液 (10 *ppm*) に浸漬処理した後に普通氷で船内保蔵したものについて，陸あげ後に CTC の浸透量を microbioassy し，更にこれら漁獲物の一部を用いて各種の加熱食品及び煉製品を調製した場合の CTC 残存量をも定量したその結果は次のように要約できる。

A.　CTC 氷で 22 日間保蔵処理した漁獲物の場合

(1)　タチウオ，イボダイ，シログチ，エソ，ハモ，及びマナガツオはいずれも表皮に平均 0.11 *ppm* の CTC を含んでいたが，筋肉にはタチウオ及びマナガツオの2例のみに 0.03 *ppm* が検出された程度であつた。従つて CTC 氷で保蔵したこれらの魚種は生食しても差支えないものと認められる。

(2)　タチウオ及びエソを原料として煉製品を製造した場合，水晒しにより 40%減少した。更に中心の最高温度 75°C であつて 70°C 以上の温度に7分間保たれたような蒸煮条件の場合でさえも定量法の感度範囲 (0.025 *ppm*) では製品中に CTC は検出されなかつた。

(3)　アマダイ，エソ，ハモ，イボダイ及びタチウオを常法により水煮，煮付，塩焼或はフライの調理をした場合にはその CTC 残存量はいずれの場合も 0.1 *ppm* をこえるものは1例もなく，エソの水煮，ハモの塩焼及びタチのフライを除いては CTC は検出されなかつた。これら3種の料理の場合には CTC の熱破壊率は 10～60% であつた。

B.　CTC 液に浸漬の後 22 日間普通氷で保蔵した漁獲物の場合

(1)　タチウオ，イボタイ，シログチ，エソ及びハモは何れも表皮に平均 0.18 *ppm* の CTC を含んでいたが，筋肉には平均 0.08 *ppm* を含んでいたに過ぎなかつた。

(2)　タチウオ及びグチを用いて煉製品を製造した場合，水晒で 40% 減少し中心の最高温度 81°C で 75°C 以上に9分間保たれたような蒸煮条件では製品中に CTC は検出されなかつた。中心の最高温度 75°C で 70°C 以上に7分間保たれたような蒸煮条件のもとで始めて 0.03 *ppm* が検出されたに過ぎなかつた。

終りに，本研究は日本レダリーＫＫ及び大洋漁業ＫＫの下関並に東京研究所の協力により遂行したものであつて，研究を支援し或は直接に材料処理及び定量に助力された関係各位に深謝の意を表する。

Ⅵ 文　　献

1. Tarr, H. L. A., Southcott, B. A., and Bisset, H. M. : *Fish. Res. Bd. Canada, Progress Report*, **83**, 35 (1950).
2. Tarr, H. L. A., Southcott, B. A., and Bisset, H. M. : *Food Technol.*, **6**, 363 (1952).
   Tarr, H. L. A., Boyd, J. W., and Bisset, N. M. : *J. Agric. Food, Chem.*, **2**, 372 (1954).
   Farber, L. : *Food Technol.*, **8**, 503 (1954).
3. Firman, M. C., Abbey, A., Darken, M. A., Kohler, A. R., and Upham, S. D. : *Food Technol.*, **10**, 381 (1956).
4. 富山哲夫，野村　稔，黒木俊一：本誌，**21**，262 (1955).

富山哲夫，黒木俊一，野村　稔：本誌，**21**，958 (1955).
5. 富山哲夫，黒木俊一，前田伝喜，浜田盛治，本田　彰：本誌，**22**，120 (1956).
6. 富山哲夫，米　康夫，黒木俊一，野村　稔，原　昭太郎，七字　徹，前田敏弘，小田一郎，松尾俊朗：本誌，**22**，128 (1956).
7 富山哲夫，米　康夫，三ケ尻和男：本誌，**22**，778 (1957).
8. 富山哲夫，米　康夫，津田　厚：本誌，印刷中
9. Steiner, G. and Tarr, H. L. A.; *Canadian. J. Tech.*, **34**, 215 (1956).
10. Abbey, A., Darken, M. A., Kline, E. F., Kohler, A. R., Matui, V. F., Miller, W. H., and Upham, S. D.: *Antibiotics Annual*, (1956～1957), p 831.

Further Studies of Inosinic Acid Formation in Carp Muscle

Tsuneyuki SAITO and Kenichi ARAI
(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

A previous communication from this laboratory reported the formation of IMP* by slow freezing of carp muscle.[1] The occurrence of such suggest that the deamination of AMP may occur as soon as ATP and ADP are converted to AMP.[2] The purpose of the present paper is to establish the occurrence of the AMP deamination as a reaction mechanism in the formation of IMP of carp muscle.

One gram of fresh carp muscle was homogenized with 20 ml. of 1/7.5 M sodium chloride solution by hand in a mortar. Adenine and hypoxanthine nucleotides and nucleoside from the homogenized extracts were studied by the hydrochloric acid gradient-elution system on Amberlite IRA-400 which has been described previously.[3] The results are summarized in Table 1.

Table 1. Changes in the concentration of nucleotides in muscle homogenate

Compound \ Treatment	I	II	III	IV	V
Inosine, hypoxanthine	0. 00	0. 08	0. 43	0. 67	1. 96
AMP	0. 04	[illegible]	0. 08	0. 10	0. 12
IMP	0. 00	2. 04	5. 66	8. 51	7. 26
ADP	0. 94	1. 56	0. 44	0. 48	0. 48
ATP	5. 76	2. 86	0. 06	0. 08	0. 03
Total	6. 74	6. 76	6. 67	9. 84	9. 85

Results are expressed in μ moles/g. of wet muscle. Amounts of inosine and of hxpcxanthine are expressed as that of inosine.

I ……Extracted with 4% $HClO_4$ rapidely (standard)
II ……Homogenized with 1/7.5 M NaCl
III ……Same as II, Kept at −6°C. for 1.5 hrs.
IV ……Same as II, 3.54 μ moles of AMP premixed, kept at −6°C. for 1.5 hrs.
V ……Same as II, 3.54 μ moles of AMP premixed, kept at +6°C. for 1.5 hrs.

During the process of grinding muscle on the ice for about 10 minutes, 2.9 μ moles of ATP are decomposed while 2.04 μ moles of IMP are accumulated (treatment 11).

When muscle, homgenized with sodium chloride, is kept at −6°C. for 1.5 hours the greater parts of ATP and 0.5 μ mole of ADP are decomposed; on the other hand5. 66 μ moles of IMP and small amounts of inosine and hypoxanthine are accumulated. (treatment III).

Re:eived nov. 4, 1957 (印刷費負担)

* The following abbreviations are used;
IMP, Inosinemonophosphate; ATP, Adenosinetriphosphate;
ADP, Adenosinediphosphate; AMP, Adenosinemonophosphate.

In each of the cases of treatments IV and V, in which 3.54 μ moles of AMP are added previously to muscle homogenate, the two, both the added material and that obtained from ATP and ADP are converted almost completely to IMP and furthermore to inosine and hypoxanthine at 6°C. or at −6°C. for 1.5 hours. But the rate of conversion to inosine and hypoxanthine is slow, especially at −6°C. In these cases it was noticed that there is almost a quantitative relationship between the amounts of ATP decomposed and the sum totals of base, nucleoside and nucleotides formed.

From these experiments it has been considered that the deamination process of AMP is so rapid that whenever the changes, accompanied by ATP splitting, occur in muscle tissue or in homogenate, considerable amounts of IMP are accumulated and then it converts to inosine and hypoxanthine slowly.

From these phenomena which were very remarkable at low temperature it may be considered that the action of AMP deaminase is not affected by such low temperature while that of 5′-nucleotide phosphatase is reduced as the temperature becomes lower.

References

(1) T. Saito, K. Arai: Nature, **179**, 820 (1957).
(2) T. Saito, K. Arai: Arch. Biochem. Biophys., (in the press).
(3) T. Saito, K. Arai: Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **23**, 265 (1957).

水産煉製品の製造過程中蒸煮による クロルテトラサイクリンの分解

東 克巳・高塚 暹・篠野雄一・小野戈止
（大洋漁業株式会社 東京研究所）

Destruction of Chlorotetracycline by Cooking in the Process of *Kamaboko* Preparation

Katsumi HIGASHI, Noboru TAKATUKA, Yuichi SASANO, and Hokoto ONO

In the case of manufactured food, the possible remain of an aspetic applied to the raw material often causes one to waver in actual usage of the final product.

In this report, with *Kamaboko* samples prepared from subdivisions of a usual batch of pasty material, which were intentionally added with different amounts of chlorotetracycline (CTC), was quantified the CTC that survived the decomposition by cooking.

The results obtained under the ordinary conditions of cooking indicated that, whereas some portions of the CTC were found remaining in the *Kamabokos* made from the pastes with this chemical over 3.6 γ/gr, it will be possicble to prepare *Kamaboko* entirely free of the CTC if the initial addition of the latter is only 0.3γ/gr or so.

クロルテトラサイクリン（以下 CTC と書く）で鮮度維持した魚の肉中には CTC が滲透している場合がある[1]。加熱による CTC の分解については TARR[2] 等が cohosalmon と lingcod の擂身に CTC を 5γ/gγ の割合で粘和して，100°C で 30 分間加熱し，経時的にその残存量を検し，又富山等[3] は CTC を 21 ppm 吸収させたカツオの肉を用いて，55, 76 及び 93°C に於ける熱分解の程度を検し，共に加熱調理によつて CTC は分解し尽されることを示唆している。その分解生成物は HINES 等の報告[4] から無毒なイソクロルテトラサイクリンであると考えられる。従つて 5 ppm 程度の CTC 入氷で保蔵した魚を原料としても，製造された煉製品中には CTC は残らない筈である。これを確認する目的で著者等は板付蒲鉾製造の蒸煮工程に於ける CTC の分解程度を検すべく，原料の魚肉糊中に各濃度の CTC を混和して造つた蒲鉾中の CTC の残存の有無を測定した。勿論，本実験は蒲鉾の CTC による防腐を研究したものではない。

蒸煮温度は以西底曳魚が主に消費される関西の慣行に従つた。なお実際の産業では煉製品原料の魚体中に含まれる CTC は蒸煮前の水洗・水晒に於ける流失に加えて水道水の場合には更に分解が伴い，又蒸煮後の「焼き」によつても減少が追加されるので，CTC の実減量は蒸煮工程にのみ極限した本実験の場合より更に上廻る値になると期待される。

1. 実 験 方 法

実験は東京月島の近藤商店蒲鉾工場で行つた。

(1) 蒲鉾原料の配合

シログチ（又はグチ）	15 kg. （4 貫）
小麦澱粉	1.7 kg. （450 匁）
食 塩	0.7 kg. （180 匁）
砂糖及び味の素	2. kg. （540 匁）
味 淋	0.55 l. （3 合）

1957 年 11 月 6 日受理（印刷費負担）

(2) 製造方法

原料魚から頭と内臓を去り，洗滌後，魚肉採取機で皮と骨を除いた魚肉を水槽で 7～8 回水晒を反復して血液と脂肪を除き，遠心分離機で脱水する。擂潰機に移して食塩・澱粉・調味料を添加しつつ擂潰した後，肉挽機で更に小骨と皮片を除いたもの（肉糊と称す）を試料とした。その一部を CTC 無添加の対照とし，残部を更に区分して CTC 蒸溜水溶液を各種割合に添加して小型擂潰機で再び混和した。これら肉糊の板付けは先づ対照品，次に CTC 添加のものを低濃度品から順次行つた。中心部と表面に熱電対を挿入或いは接触させて，加熱室（下部から生蒸汽吹込み式，610×710×810 mm 箱型）で蒸煮した。蒸煮は中心温度が25分後に最高 85°C に達するものと 93°C に達するものとの２様式を別々に行つた。

(3) 中心と表面の温度測定法

銅・コンスタンタン熱電対の先端を中心温度測定には板面中央部で板面からの厚さの $^{1}/_{4}$ の位置に留る様に蒲鉾の端面から挿入し，表面温度測定には中央の表面に接着して行つた。

(4) CTC の定量方法

定量の試料は蒸煮前のものは肉糊の各部から無作為に採り，蒸煮後のものは製品の中央部から更に板の接触部を厚さ 3 mm と表面の彎曲部とを除いて採り，天野等[6] が決定した蒸煮の最低温度の部分とした。これらにつき Kohler の pad-plate 法[7] に拠つて CTC の残存量を測定した。即ち上記試料 5 gr に酸性アセトン水 25 cc. を加えてホモジナイザーで一定時間混和抽出し，これを遠心分離した透明液につき *Bacillus Cereus* No. 5（醗研，3466）を用いて測り，試料中の CTC 含有量を算出した。本測定に於ける CTC の検出限界は 0.02 γ/cc であつた。

Ⅱ 実　験　結　果

(1) 板付蒲鉾の形

蒸煮後の製品の大きさは試料 50 本につて測定した平均値の存在限界は次の通りであつた。

長さ ： 160 ± 2 mm　　巾 ： 45 ± 2 mm　　高さ ： 20 ± 1 mm

(2) 中心並に表面の温度の推移

毎実験に中心温度は 9 本，表面温度は 2 本の試料に各熱電対を挿着して測り，その成績は 80°C 蒸煮のものを Fig 1 に，90°C 蒸煮のものを Fig 2 に示した。両図に於いて曲線Ⅰは表面，曲線Ⅱは中心の温度推移である。曲線Ⅱで実線の上方へ極端に振れた測定点は熱電対の挿入位置が伝熱の中心線*（仮称）からずれた為のものであつた。従つて正しい最低温度（所謂中心温度）の軌跡として曲線Ⅱを画いた。

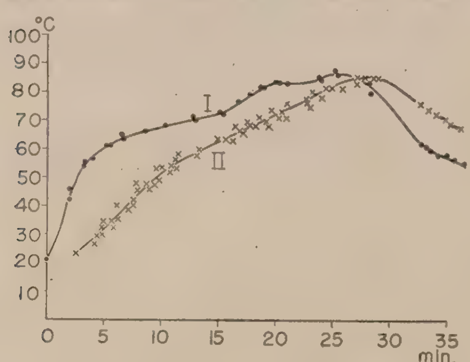


Fig 1. Rates of temperature elevation of the surface (Ⅰ) and the core (Ⅱ) of a Kamaboko, when the heating was continued until the core temperature had reached about 85°C.

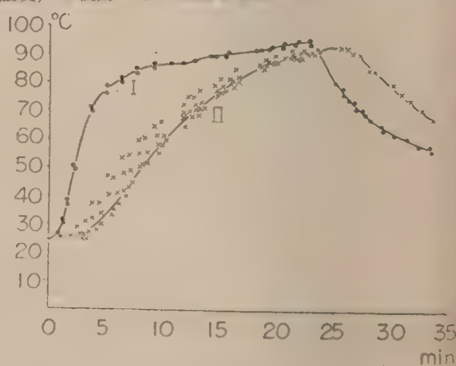


Fig 2. The same as in Fig 1, but the core temperature had reached about 93°C.

* 記述の便宜上この仮称をした。内三，亀井，八田著化学工学（丸善 17 年）97 頁R参照

(3) CTC の蒸煮による分解

原料肉糊中の添加量と蒸煮後残存量の分析結果は Table 1 の通りである。

Table 1.
Effect of heating on the CTC content

CTC content before heating 加熱前のCTC量 (γ/gr)	CTC content after heating 加熱後の CTC 量 (r/g)			
	No	maximum temperature at the core of kamabo-ko being 85°C. 中心温度が最高 85°C	No	maximum temperature at the core of kamabo-ko being 93°C. 中心温度が最高 93°C
0.16	1	0		
	2	0		
	3	0		
	4	0		
	5	0		
	6	0		
	7	0		
	8	0		
	9	0		
	10	0		
0.29	11	0		
	12	0		
	13	0		
	14	0		
	15	0		
	16	0		
	17	0		
	18	0		
	19	0		
	20	0		
0.75	21	0.15	24	0
	22	0.18	25	0
	23	0.18	26	0
3.6	27	0.90	30	0.46
	28	0.75	31	0.50
	29	0.90	32	0.39
6.9	33	1.8	36	1.15
	34	1.9	37	0.75
	35	2.0	38	0.75
20.4	39	5.8	42	2.0
	40	6.0	43	2.4
	41	6.0	44	2.2
61.8	45	26.3	48	7.2
	46	25.1	49	7.7
	47	25.1	50	7.5

この分解成績は前記 Tarr[2] 並に富山氏[3] 等の魚肉の成績或は Kohler の鶏肉の成績[8] と概ね一致しているから本実験でも CTC は正常な分解が行われたものと了解出来る。尚ほ低濃度部については特に実験を繰返し行うことによつて分解を確認した。

Ⅲ 結　　論

本実験は蒸煮直前の肉糊中に CTC を添加して蒸煮のみに依る CTC の分解を検したものであつて，魚肉煉製品の防腐試験を行つたものではない。

蒸煮直前の板付蒲鉾中の CTC 含有量が

(a) 約 0.3 γ/gr 以下の場合は中心最高温度 85°C の蒸煮に依つても CTC は分解して検出されなくなる。

(b) 0.75 γ/gr の場合は中心最高温度が 85°C の蒸煮では CTC の痕跡が認められるが 93°C の蒸煮では検出されなくなる。

(c) 3.6 γ/gr 以上の場合には CTC は検出される程度に残る。

実際の蒲鉾製造では原料魚肉の徹底した水洗い，水さらし或は表面の「焼き」等数多の処理で CTC は減殺されると考えられるので，初めに原料肉に存在して差支えない濃度は上記数字よりも更に大きくなし得るであろう。

終に本研究は厚生省の指示により，食品衛生調査会抗生物質特別部会の資料として九州大学農学部水産学教室と併行して行つたものの一部である。本研究試料製造に工場を提供され種々御協力を賜つた東京月島浜藤近藤商店並にオーレオマイシンを提供された日本レダリー株式会社に謹謝する。

文　　献

1) 梅沢浜夫：*J. of Antibiotics, A.*, **10**, 87—93 (1957).
2) TARR, H. L. A., BOYD, J. W., and BISSET, H. M. : *J. Agric. & Food. Chem.*, **2**, 372 (1954)
3) 富山哲夫, 米康夫, 三ケ尻和男：本誌, **22**, 778-783 (1957)
4) L. R. HINES et al : *Antibiotic annual.*, 1956/57, 843.
5) 俵正, 篠野雄一：本誌, **22**, 721 (1957). 及 **23**, No. 6, 投稿済 (1957)
6) 天野慶之, 内山明, 福田正彦, 河端俊治, 高瀬明：本誌, **20**, 816-829 (1955).
7) A. R. KOHLER *et al* : *Antibiotics annual.* 1953/54 409-15.
8) A. R. KOHLER *et al* : *Food Technol.*, **9**. 151 (1955).

イカナゴ及びカタクチイワシ煮干に対する酸化防止剤の適用*

伊佐良信
(香川県水産試験場)

Application of Some Antioxidants to Boiled and Dried Ikanago (*Ammodytes personatus* GIRARD) and Anchovy (*Engraulis japonicus* T. & S.)

Yoshinobu ISA

Ikanagos and anchovies are fished in large quantities in Kagawa-pref. during the period of January to June along the coast of Bisan-Seto and July to Novenber along the coast of Harima- and Hiuchi-Nada, respectivly, and most of them are consumed as raw material for the dried boiled fish produt "niboshi," which is one of the most familiar fish product in Japan.

But, these fishes in the period of prosperous fishing are so excessively oily as to make the product apt to be readily deprived of their market value owing to deteriorations of fish-oil, i.e., rusting and rancidity.

The author made an experiment about the effect of some antioxidants in protecting the product from undergoing the said deteriorations, and found that the product was preserved in a good condition at room temperature if BHA was used in the preparation by 0.01% of the cooking water.

香川県ではイカナゴ *Ammodytes personatus* GIRARD は，1月～6月の間備讃瀬戸の各所で込ませ網により，又，カタクチイワシ *Engraulis japonicus* T. & S. は，7月～11月に備讃瀬戸の両端に連らなる播磨灘及び燧灘で船曳網，巾着網等によつて漁獲されている。これらの年間漁獲量は，カタクチイワシ 210万貫，イカナゴ 85万貫 (1955)[1] で，夫々県内総漁獲量の 30%及び 12% を占めており，いずれも殆んど全部が煮干品に製造されている。このようにカタクチイワシ及びイカナゴは，香川県の内海漁業の点からみても，加工業の点からみても，重要な魚種であるが，イカナゴの場合，漁期中，短期間（産卵直後の親魚やシラスの漁期）を除いては，比較的多脂肪であり，一般に漁期の初めから漁期の進むに従つて漸次含油量を増加する傾向がある。殊に，盛漁期の4月～5月には最も含油量が多く，このためイカナゴ煮干製品が"油焼け"によつて損失を受けることは，他の魚種製品よりもはるかに大きい。又，カタクチイワシ煮干で油焼けが問題になつているのは，主に漁期の初めの産卵期の漁獲物である。

近年水産物の油焼防止に対する酸化防止剤の効果についての研究がかなり報告[2] されているが，筆者は前述のような事情から，備讃瀬戸東部で漁獲されたイカナゴ及び播磨灘産のカタクチイワシの煮干に対する B.H.A. と Lintone C の適用効果についての実験を行つたので報告する。

実験

I） イカナゴ煮干に対する BHA 及び Lintone C の酸化防止効果

実験方法

i） 材料： 1955年5月30日木田郡庵治港に水揚されたもの（平均体長 6.6 cm，平均体重 1.44 g）

ii） BHA 処理： 平釜の中へ約 6%の塩水 5 斗を入れて加熱し，沸とう直前に BHA の10%アルコ

1957年11月12日受理（印刷費負担）

* 香川県水産試験場業績

ール溶液を煮熟水の1万分の1になるように添加攪拌し，沸とうと同時に材料約1貫を投入して4～6分間（第2回以後は，魚体浮上を適度とするから約3分）煮熟後平籠ですくい上げて水切りした。

iii） Lintone C 処理： 約6％塩水6斗の中で原料魚1貫を 1.5～3.0 分間煮熟し，（重油バーナー使用）平籠ですくい上げたもの（対照）を，0.1% Lintone C 溶液の中に3分間浸漬した後水切りした。

iv） 酸化防止効果の観察法： 上記の各試料は実験室に持帰り，室内（20～26°C）で乾燥し，乾燥開始後約2ケ月間に於ける魚体の変色度（特に腹部）の変化を官能観察した。又煮熟後9日目の各試料についてエーテル抽出物中の酸化酸量及び過酸化物態酸素量を比較した。但し各試料は3日目に乾燥を終了した。

結果及び考察

酸化防止剤で煮熟又は浸漬処理してから 35 日間の魚体の変化の観察結果は table 1 に示す通りである。

Table 1. Intensities of discoloration of "niboshi-Ikanago" observed during the storage period.

Sample No. \ Date	Ⅴ−31	Ⅵ−1	〃−3	〃−4	〃−5	〃−6	〃−13	Ⅶ−2	〃−4
Days	1	2	4	5	6	7	14	33	35
1	−	−	−	−	−	−	−	±	++
2	−	−	−	−	−	±	+	+++	+++
3	±	+	++	+++	+++	+++	++++	++++	++++

Note： Sample No. 1. Boiled in 6% salt soln. containing 0.01% BHA
〃 2. Treated with o.1% Linton-C soln. after boiling the fish in 6% salt water
〃 3. Control

− No discoloration ++ Yellow
± Slight lemon +++ Yellowish brown
+ Lemon yellow ++++ Brown

即ち，対照のものは乾燥開始の第1日目に既に微かながら，変化が現われ，第2日目に早くも淡黄色となるのに対し，試験区の各酸化防止剤処理のものは，5日目までいずれも全く変色せず，Lintone C 処理のものが6日目に変色の兆があり，14 日目に淡黄色となつた。

更に BHA 処理のものでは 14 日経過後も変色が認められず，33 日目にも殆んど変らないが，微かに淡黄色がみられ，35 日目に黄色となつた。

以上の経過からすると，BHA はイカナゴ煮干に対して，約1ケ月間製品価値を維持する効果があるように思われるし，同じ意味で，Lintone C も約半ケ月の効果が推定された。又乾燥過程に於て，対照のものは煮熟後数時間で，魚体表面に油球が滲出して来たが，薬品処理のものではこの現象がみられなかつた。このような現象は単に油脂の酸化が防止されているか否かという点からだけでなく，製品の姿に及ぼす影響の点からみてもかなり重要な事である。

Table 2. Peroxide oxygen and oxidized acids in crude fat of "niboshi-Ikanago" (measured 9 days after preparation)

Sample No.	Oxidized acids(%)	Peroxide oxygen(c. c. of 0.01 N $Na_2S_2O_3$) per 1g. oil	Crude fat (%)
1	8.7	6.32	17.7
2	10.7	6.94	22.0
3	34.2	23.28	10.8

Cf. Sample Nos. are same as table 1.

煮熟後9日目の酸化酸及び過酸化物態酸素は，薬品処理のものは，対照に比べてはるかに少く，酸化防止剤間では，BHA 処理のものが少く (table 2)，その効果の点で，魚体変色の肉眼観察結果と一致していた。

Ⅱ） カタクチイワシ煮干に対する BHA 及び Lintone C の酸化防止効果

実験方法

i） 材料及び処理法： 1956 年8月，9 月に播磨灘で水揚された比較的鮮度良好のものを，イカナゴ煮

理と同様の手順で処理した。但しこの場合，燃料はすべて薪を使用し，塩水濃度1％，加熱時間4～5分，材料の1回煮熟量 1.5 貫であつた。

ii） 酸化防止剤の効果の観察： イカナゴ煮干の場合と略同様であるが，乾了した各試料は大型角封筒に別々に入れて室内に保存し，22～25 日間の夫々の変色度を肉眼観察し，酸化酸及び過酸化物態酸素を測定し，これらの結果の時間的経過を比較した。

結果及び考察

BHA 及び Lintone C 処理のもの並に対照の各試料群の変色程度の観察結果は table 3 に示した。即ち

Table 3. Discoloration of boiled and dried anchovy observed during storage.
± Slight lemon, ＋ Lemon, ⧺ Yellow

Month	August					September		
The methods of treatment / Days stored	0	5	10	15	25	7	15	22
Boiled in brine (1％ salt soln.)…………Control	−	±	＋	⧺	⧺	−	±	±
Soaked in 0.1％ Linton-C after boiling the fish in 1％ salt soln.	−	−	−	±	±	−	−	−
Boiled in 1％ salt soln. containing 0.01％ BHA.	−	−	±	±	＋	−	−	−

8月のものでは，10 日目まで Lintone C 処理のものが最も変色度が小さく，15 日目で BHA 処理のものは前者と同じ程度になるが，25 日目になると，再び Lintone C 処理のものが BHA 処理のものにまさる好結果を示した。

対照のものは，5 日目に変色が始まり，15 日目には既に試験群と顕著な差異が認められた。

又9月の製造処理したものでは，気温その他の環境条件の変動もしくは材料たる漁獲群体としての含油量の減少のためか，15 日目に対照と試験品との間に極僅かに差異があるように思われただけで，以後 30 日目に至つても薬品処理の効果は殆んど認め難かつた。

保存中のカタクチイワシ煮干のエーテル抽出物中の過酸化物態酸素，酸化酸の測定結果は，table 4，5 に示す通りである。8月に於ける酸化酸量の変化からみると，5日目では殆んど差がないが，17 日目に酸化

Table 4. Oxidized acids and peroxide oxygen in ether extracts of boiled and dried anchoy stocks.
(The oxidized acid values contain the factor of ethyl ether.)

Days stored	5		11		16	17	
the memods of treatment / Items	Oxidized acids (％)	Crude fat (％) (Moisture)	Peroxide oxygen (cc. of 0.01 N $Na_2S_2O_3$ per 1g oil)	Crude fat (％)	Crude fat (％)	Oxidized acids (％)	Crude fat (％)
Boiled in 1％ salt soln. (Contiol)………1	14.67	8.89 (16.08)	5.5	7.45	7.06	24.75	4.87
Soaked in 0.1％ Linton-C after boiling the fish in 1％ salt soln.……………………2	—	6.89 (13.65)	5.6	7.98	7.50	20.60	7.74
Boil edin 1％ salt soln. containing 0.1％ BHA. …3	14.06	8.07 (17.75)	2.3	7.91	7.80	20.00	6.75

防止剤の効果が幾らか認められる。又9月のものでは，過酸化物態酸素量からして，7日目に酸化防止剤の効果的差異が認められ，8月のものでもこの測定値では，11 日目の測定で差異があり，いずれの場合もBHA 処理の方が Lintone C 処理よりも効果があるようである。ただし8月のものは官能観察結果とは幾分異つており，更に追究する必要があろう。

以上の結果から，カタクチイワシ煮干に対する酸化防止剤の効果は認めるが，実用上使用すべき時期及び

量は更に検討すべきである。

Table 5. Peroxide oxygen in ether extracts of boiled and dried anchovy stocks.
*The value obtained 7 days after extracting.
Cf. Treatment nos. are same as table 4.

Treatment no. \ Days in storage	7	28
1	23.64*	1.82
2	8.08*	0.64
3	3.93*	0.12

要　　約

BHA 及び Lintone C で処理したイカナゴ及びカタクチイワシの煮干の変色度と，そのエーテル抽出物中の酸化酸量及び過酸化物態酸素の測定結果を比較観察して，両酸化防止剤の効果を検討した。

イカナゴ煮干に対する場合

（1） 酸化防止剤で処理したものと対照品との間には，変色度については，製造開始後2日目に（味，臭については4日目に）至つて始めて明かな差異が認められた。

（2） 対照のものは一応煮干として製了したと考えられる3日目以後は，変色が急速で，乾燥初期に於ても既に魚体表面に油脂の滲出現象がみられた。

（3） 両酸化防止剤の煮干イカナゴに対する品質維持効力は，この実験条件のもとでは，BHA は1ケ月 Lintone C は半ケ月と推定された。又酸化防止剤処理区分では，魚体表面への油脂の滲出現象はみられなかつた。

カタクチイワシ煮干に対する場合

（4） 酸化防止剤の効果は，変色度観察結果によると，8月製造処理のものでは，製了後5日目に現われるが，9月製造のものでは，15 日目に僅かにみられるだけで以後大差はない。

（5） 化学的観察結果からすると，過酸化物態酸素については 10 日目内外に，酸化酸については 17 日目の測定値で酸化防止剤の効果的差異がみられ， BHA が Lintone C にまさつているのはイカナゴの場合と同様であつた。但し8月製造のものでは，変色度観察の結果は，Lintone C が BHA にまさつていて，化学的測定結果と相違していた。この点については更に検討したい。

終りにのぞみ，酸化酸，過酸化物態酸素の定量についての御指導と，原稿の御校閲を賜わつた東京水産大学野中順三九博士に衷心より厚く御礼申上げる。尚材料及び製造施設の使用を提供して頂いた庵治村西村幸太郎，相生漁業協同組合長渡辺隆行の両氏，並に実験に協力された本場高杉，合田両技師等の諸氏に深く謝意を表する。

文　　献

1) 農林省香川統計調査事務所： 香川県農林水産統計年報（水産編）(昭. 30)
2) 猿谷外一： 日水誌，**20** (1) (1955).
尾谷・高柳・松橋： 日水誌，**19** (9) (1954).
吉富製薬KK： リントンCの手引 (昭. 30).
日本揮発油KK： サステンの研究 (昭. 30).
松橋： 日水誌，**20** (6) (1955).
猿谷・外山： 日水誌，**21** (4) (1956)； **22** (3) (6) (1957).

雑　　録

○関東支部5月例会　5月28日，於東海区水産研究所

1. 刺網に罹るイワシの分布状態—I. 水平罹網分布　野村正恒，三次信輔，吉牟田長生（東海区水研）中野麟一（鳥取水試）
2. 同上　—II　垂直罹網分布　同上
3. バランスド，アクアリウムに於ける魚の飼育適性密度について—I. 佐伯有常（東大）

○関東支部11月例会　11月26日　於東大農学部水産科

1. 魚の資源の死亡量函数と成長函数　田中昌一（東海区水研）
2. まいわし資源利用合理化についての一考察　田中昌一（東海区水研）

○関東在住役員会

開催日　昭和32年12月10日
場　所　東京水産大学会議室
出席者　評議員　会長外6名
　　　　理　事　10名

議　事

（1）農学会評議員及び運営委員選出の件

12月12日までに農学会へ人名を報告する様に求められたゝめ，地方在住評議員の御意見を聞く時間的余裕がないので，関東在住役員の出席者に投票していたゞき，下記の如く決定した。

農学会評議員　（化学）　森　高次郎　氏
　　　　　　　（一般）　久保伊津男　氏
運営委員　新崎盛敏　氏

（2）団体会員及び賛助会員の取扱に関する件

a. 団体会員は本学会の行う各種投票の際投票権を認めない。賛助会員はその代表者に投票権がある。

b. 各種案内（支部例会通知等）に要する通信費は，団体会員，賛助会員とも一団体につき年間100円以内を本部で負担し，支部から請求があれば支部に送金する。

○関東在住役員会

開催日　昭和32年12月23日
場　所　東京水産大学会議室
出席者　評議員　会長外6名
　　　　理　事　9名

議　事

（1）国際会議の件

日本学術会議から，1958年度中に開催される国際会議の一覧表が送附されると共に，会議へ出席する適任者の推薦を昭和33年1月25日までにする様にとの連絡があつたので，本会で水産に関係ある7会議を選定した。このことを支部に通知すると共に，1月20日までに候補者を推薦していただく様依頼することゝした。

（2）年会の件

日本農学大会水産部会（年会）は下記日程で行うことゝ決定した。

昭和33年4月1日　評議員会
　　　　4月2日　研究発表
　　　　4月3日　研究発表，総会

4月4日　研究発表
4月5日　農学会総会
4月6日　シンポジゥム

（3）農学会分担金の件

日本農学会では各学会の会員数に依り分担金を決定したので，本学会は会員数 1,374 名，分担金 7,220 円となつた。

（4）原子力シンポジゥム分担金の件

会員 1,000 名以上の学会は分担金 5,000 円と云う定めに従うことゝした。

記

○訂　　正

頁 行	誤	正
410, 15	$E_bS_j=\sum_{k=1}^{m}\sum_{i=1}^{n} E_{bik}S_j/\sum_{k=1}^{m}\sum_{i=1}^{n} l_{bik}S_j$	$E_{bsj}=\sum_{k=1}^{m}\sum_{i=1}^{n} E_{biksj}/\sum_{k=1}^{m}\sum_{i=1}^{n} l_{biksj}$
410, 16	$E_{bik}S_j$	E_{biksj}
18	$l_{bik}S_j$	l_{biksj}
22	E_bS_j	E_{bsj}
411, 19	$E_bS_j=\sum_{k=1}^{m}\sum_{i=1}^{n} E_{bik}S_j/\sum_{k=1}^{m}\sum_{i=1}^{n}$	$E_{bsj}=\sum_{k=1}^{m}\sum_{i=1}^{n} E_{biksj}/\sum_{k=1}^{m}\sum_{i=1}^{n} L_{biksj}$
20	$E_{bik}S_j$	E_{biksj}
23	$l_{bik}S_j$	l_{biksj}
本文 413, 15	Table 2	Table 4
本文 414, 2	E_bS_j	E_{bsj}
5	E_bS_j	E_{bsj}
417, 1	E_bS_j	E_{bsj}

頁 行		誤	正
436 頁	Table 1 表題	Crube	Crude
〃	〃 表の9行目	1.4	6.4

昭和三十三年一月二十日　印　刷
昭和三十三年一月二十五日　発　行

第二十三巻　第九号

本号定価 160円
(送料別)

編集兼発行者　松　江　吉　行

東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内

発　行　所　日本水産学会

東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内

振替口座　東　京　59529番

印　刷　者　篠　原　収　二

印　刷　所　東海出版印刷株式会社

発　売　所　東海出版印刷株式会社

東京都中野区江古田3の1223

電話中野 (38) 4101・9108